

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H.-J. Sinell

UNTERSUCHUNGEN ZUR MIKROBIOCOENOSE
VON LEBENSMITTELMIKROORGANISMEN
(ANTAGONISTISCHE UND SYNERGISTISCHE WECHSELWIRKUNGEN
ZWISCHEN ENTEROBACTERIACEAE, PSEUDOMONADACEAE,
STAPHYLOKOKKEN, ENTEROKOKKEN,
BAZILLEN UND CLOSTRIDIEN)

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Michael Marx
Tierarzt aus Nürnberg

Berlin 1972
Journal - Nr. 787



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H.-J. Sinell

UNTERSUCHUNGEN ZUR MIKROBIOCOENOSE
VON LEBENSMITTELMIKROORGANISMEN
(ANTAGONISTISCHE UND SYNERGISTISCHE WECHSELWIRKUNGEN
ZWISCHEN ENTEROBACTERIACEAE, PSEUDOMONADACEAE,
STAPHYLOKOKKEN, ENTEROKOKKEN,
BAZILLEN UND CLOSTRIDIEN)

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Michael Marx
Tierarzt aus Nürnberg

Berlin 1972
Journal - Nr. 787

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. H.-J. Sinell
Referent: Prof. Dr. G. Reuter
Korreferent: Prof. Dr. H.-J. Sinell



Tag der Promotion: 12. Juli 1972

Inhaltsverzeichnis

<u>Einleitung</u>	1
<u>Schrifttum</u>	
1. Definition wichtiger biocoenotischer Begriffe	2
2. Erste Untersuchungen über mikrobiellen Antagonismus und Synergismus	4
3. Antagonismus und Synergismus unter Lebensmittelmikroorganismen	5
4. Faktoren und Wirkungsmechanismen mikrobiocoenotischer Prozesse	18
a) Durch Zusammensetzung und Bestandteile des Substrates, sowie durch die Physiologie des Erregers bedingte Beeinflussungen	19
b) Durch Erregerprodukte hervorgerufene Beeinflussungen	25
c) Abhängigkeit vom Keimzahlverhältnis	35
5. Bisher beschriebene Nachweisverfahren für die Untersuchung mikrobiocoenotischer Prozesse	36
<u>Eigene Untersuchungen</u>	
<u>A. Material und Methodik</u>	
1. Prüfstämme und deren Charakterisierung	41
2. Versuchsmethodik	45
3. Auswertung	54
<u>B. Ergebnisse der Untersuchungen</u>	
1. "Agar-Querstrich-Test"	59
2. "Quantitativer Plattentest"	67
3. "Simultaner" und "verzögerter" Antagonismus	74
4. "Suspensionstest"	75
5. Versuche mit dem Biocoenose-Simulator	80
<u>C. Besprechung der Ergebnisse</u>	81
<u>D. Schlußfolgerungen</u>	95
<u>Zusammenfassung</u>	98
<u>Literaturverzeichnis</u>	100

Einleitung

Nicht immer sind Mikroorganismen in Lebensmitteln unerwünscht, auch wenn dieser Umstand manchem Verbraucher abschreckend erscheinen mag. Zu häufig werden die Begriffe "Mikroorganismen" oder "Bakterien" mit dem Begriff "Krankheitserreger" gleichgestellt. Und zu wenig ist über Wert und Notwendigkeit mancher Bakterienart bekannt. So können bestimmte Keimarten Herstellungsprozesse begünstigen oder erst ermöglichen, wie dies beispielsweise bei Sauermilchprodukten oder Käseereizerzeugnissen der Fall ist. Erst durch den Ausfall hierfür notwendiger "Starterkulturen" wurde die gegenseitige Beeinflussung verschiedener in einem Biotop gemeinsam vorkommender Mikroorganismen aufgedeckt. Dabei lassen sich grundsätzlich zwei Arten von Beeinflussungen feststellen: die gegenseitige Wachstums hemmung und die Wachstumsstimulierung.

Erst in den letzten Jahrzehnten wurden umfangreichere systematische Untersuchungen über Art und Ursache solcher hemmender oder stimulierender Wirkungen angestellt.

Zwei Mechanismen sind hier zu erwähnen. Einmal sind unterschiedliche Nährstoffangebote, Wachstumsgeschwindigkeiten, Ausgangskeimgehalte und andere substratbedingte Faktoren für eine Beeinflussung verantwortlich. Zum anderen können Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen analoge Wirkungen hervorrufen, wie zum Beispiel die von einigen Species gebildete Milchsäure, die eine natürliche Schranke für ein breites Spektrum unerwünschter, weil pathogener oder verderbniserregender Mikroorganismen darstellt. In diese Kategorie gehören außerdem spezifische Substanzen, deren bekannteste das "Nisin" ist, eine von *Sc. cremoris*- und *Sc. lactis*-Stämmen gebildete und in einem weiten Bereich antibiotisch wirkende Substanz.

Hemmende Wirkungsmechanismen sowie wachstumsfördernde Beeinflussungen sind in der Lebensmittelhygiene bislang vergleichsweise wenig untersucht worden. In der vorliegenden Arbeit soll daher zunächst eine möglichst umfas-

sende Übersicht der vorhandenen Literatur gegeben werden. Ausgehend davon sollen durch eigene Untersuchungen bisherige Angaben in der Literatur bestätigt oder ergänzt werden.

S c h r i f t t u m

1. Definition wichtiger biocoenotischer Begriffe

Vor einer Zusammenstellung der eigentlichen Literatur sollen zum besseren Verständnis die in einigen Arbeiten angeführten Definitionen über mikrobiocoenotische Aktivitäten angegeben werden.

'Jedes Leben ist in Wirklichkeit ein Zusammenleben; keine Pflanzen- oder Tierart kann auf die Dauer für sich allein existieren. Das gleiche gilt selbstverständlich auch für Bakterien, und alle Ergebnisse, die aus der Beobachtung von Reinkulturen gewonnen wurden, geben daher nur ein unvollständiges Bild über physiologisches Verhalten in der Lebensgemeinschaft' (zit. nach HARTMANN & SINGRÜN, 1968). Die Gesamtheit der potentiellen Verhaltensweisen und Aktivitäten einzelner Keimarten in Mischpopulationen bezeichnet man als Biocoenose oder Mikrobiocoenose. Von Antagonismus spricht man daher dann, wenn durch derartige Einwirkungen Keimgruppen eines Biotops überhaupt keine oder nur eine reduzierte Vermehrung zeigen. Entsprechend bezeichnet man als Synergismus Einflüsse, die eine Zunahme der Vermehrung, beziehungsweise überhaupt erst das Auftreten von Wachstum bewirken. BUNGAY & BUNGAY (1968) führen eine Reihe von Begriffen an, deuten aber dabei auch auf deren problematische Abgrenzung untereinander hin. Mit dieser Einschränkung läßt sich eine Skala folgender Art erstellen:

Antagonismus (= Wachstumshemmung)

- | | |
|---------------|--|
| "predation" | = ein Organismus verdaut den anderen |
| "parasitism" | = ein Organismus bereichert sich aus dem anderen |
| "competition" | = Wettlauf um Raum und Nährstoffe |

Neutralismus (= keine gegenseitige Beeinflussung)

Symbiose (= positive gegenseitige Beeinflussung)

"commensalism" = ein Organismus profitiert, der andere bleibt unbeeinflusst

"mutualism" = jeder Organismus profitiert vom anderen

Synergismus = ein Organismus bildet einen für den anderen notwendigen wachstumsfördernden Metaboliten.

Der "amensalism" (= Veränderung der Umgebung durch einen Organismus) ist in dieser Skala nicht einzuordnen. Seine Auswirkung kann sowohl positiver Natur - und damit dem Synergismus nahestehend - als auch hemmender Natur sein.

Im Zusammenhang mit dem hier angeführten Begriff der "competition" sei noch das kompetitive Wachstum als in der deutschsprachigen Literatur verwendetes Äquivalent genannt.

Die für die Mikrobiocoenose verantwortlichen Wirkungsmechanismen sollen in einem späteren Kapitel aufgezeigt werden. Jedoch soll an dieser Stelle noch der Begriff der antibiotischen Substanz definiert werden. Nach WHEATER et al. (1952) und MOSSEL & INGRAM (1955) versteht man darunter - im Gegensatz zu den relativ unspezifischen, antagonistisch wirkenden Stoffwechselprodukten in Form einfacher Moleküle (H_2O_2 , alkoholähnliche Stoffe, organische Säuren) - komplexere biosynthetische, zumeist proteinähnliche und in der Regel sehr artspezifische Substanzen, wie z.B. das oben erwähnte "Nisin".

In diesem Wechselspiel wachstumshemmender, beziehungsweise stimulierender Wirkungen kann man als Effektorstamm den aktiv hemmenden oder stimulierenden Stamm, z.B. die "Nisin"-Bildner, bezeichnen. Demgegenüber werden die gehemmten oder stimulierten Species Reagentenstämme genannt. Dabei ist allerdings stets in Betracht zu ziehen, daß in nahezu allen Fällen eine Beeinflussung von gegenseitiger Natur ist und daß die Abgrenzung von Effektor oder Reagent im Effektor-Reagenten-Verhältnis auch als eine

Frage der Versuchsanstellung anzusehen ist. So wurden im Rahmen dieser Arbeit aus jeweils einer einzigen Versuchssreihe eines oder mehrerer Effektorstämme mit mehreren Reagenstämmen bipolare Ergebnisse erhalten, da die Reagenstämme dem oder den untersuchten Effektorstämmen gegenüber zugleich wiederum Effektorstämme darstellten.

2. Erste Untersuchungen über mikrobiellen Antagonismus und Synergismus

Die Entwicklung der Forschung über mikrobiocoenotische Prozesse hat mit mehr oder weniger zufälligen Beobachtungen an einzelnen Keimarten ihren Ausgang genommen. Stellvertretend seien hier ZUKERMAN & MINKEWITSCH (1925) genannt, die auf einer mit "Mesentericus-Keimen" verunreinigten Platte eine Hemmung der überimpften "Pseudodiphtherie-Keime" feststellten. Frühe Arbeiten befassen sich zunächst überwiegend mit Bazillen, vor allem mit *Bac. anthracis*, die gegenüber verschiedenen anderen Species untersucht wurden (BABES, 1885; EMMERICH & diMATTEI, 1887; GARRE, 1887; LEWEK, 1889; EMMERICH & LOEW, 1889; OLITSKY, 1891). Eine auf der Hemmwirkung von Staphylokokken beruhende zufällige "Therapie" bei einem an Diphtherie Erkrankten beschrieb SCHIØTZ (1909).

Es folgten erste systematische Untersuchungen, so durch CONN & BRIGHT (1919) über die Abhängigkeit antagonistischer Wirkungen von der Größe der Ausgangsinocula oder durch GUNDEL & NIMSTEDT (1925) und DUJARDIN-BEAUMETZ (1932) über die Abhängigkeit von der Art des Mediums. BÜRGERS beschrieb 1930 die Wechselwirkungen zwischen Streptokokken, Pneumokokken, Diphtherie- und "Influenza"-Bazillen im Mäuseversuch.

Zu einem weiteren Abschnitt kann man die Untersuchungen über die Wirkungsmechanismen zusammenfassen. Die Hemmwirkung der Stoffwechselprodukte von *Ps. putida* und *Ps. fluorescens* gegenüber "*B. typhosus*" konnte schon FROST (1904) feststellen. AVERY & DUBOS (1931) wiesen die Bildung höchst spezifischer Enzyme nach, die in elektiver Weise andere Bak-

terien sowohl "in vivo" als auch "in vitro" beeinflussen. Über die Bildung einer antibiotischen Substanz durch einen *E. coli*-Stamm berichtete GRATIA (1932); OXFORD (1944) beschrieb eine solche Substanz von Milchstreptokokken, die er "Diplococcin" nannte.

Angaben über einen Synergismus zwischen *Ps. fluorescens* und "*Sc. lacticus*" in Milch bei Temperaturen zwischen 10 und 20 °C machte LUXWOLDA (1911).

Betrachtet man allein das Gebiet der Lebensmittelmikrobiologie, so kann man als den Beginn der Forschung über mikrobiocoenotische Prozesse die Arbeit von ROGERS (1928) über das Verhalten von Milchstreptokokken gegenüber anderen in der Milch vorkommenden Keimen ansehen. Auf diesen Bereich der Milchstreptokokken und Laktobazillen blieb die Forschungsarbeit vergleichsweise lange beschränkt (SHERMAN et al., 1928; HOYLE & NICHOLS, 1948; RITTER, 1950, 1952, 1956; BARIBO & FOSTER, 1951; HIRSCH, 1951; HIRSCH et al., 1952; WHEATER et al., 1952; TRAMER, 1954, 1966; YOUNG et al., 1956; HIGGINBOTTOM, 1959; GRECZ et al., 1959; VINCENT et al., 1959; MARTH & HUSSONG, 1963; BRYAN, 1965; MARTH, 1966).

Gezielte Untersuchungen über die gegenseitige Beeinflussung anderer Lebensmittelkeime als Milchstreptokokken und Laktobazillen, sowie über deren Verhalten in anderen Lebensmitteln als Milch und Molkereierzeugnissen wurden erst seit Anfang der sechziger Jahre durchgeführt. Nähere Angaben hierzu werden im folgenden Abschnitt bei den einzelnen Keimgruppen gemacht.

3. Antagonismus und Synergismus unter Lebensmittelmikroorganismen

In der folgenden Literaturübersicht sollen sowohl allgemein mikrobiocoenotische Prozesse als auch besonders die Lebensmittelhygiene betreffende Fälle angeführt werden. Die Gliederung erfolgte nach Keimgruppen und innerhalb dieser nach der jeweiligen Funktion im Effektor-Reagenten-Verhältnis.

a) Micrococcaceae

Da die taxonomische Aufteilung der Familie Micrococcaceae heute noch sehr umstritten ist und eine befriedigende Lösung bislang noch nicht gefunden wurde, soll hier auf die Einteilung nach BREED, MURRAY & SMITH (Bergey's Manual, 1957) Bezug genommen werden. Danach wird diese Familie unterteilt in das Glukose aerob spaltende, apathogene Genus Micrococcus und in das Glukose anaerob spaltende Genus Staphylococcus. Letzteres wiederum wird in die Mannit anaerob vergärende, koagulase-positive und stets pathogene Species Staph. aureus und in die Mannit nicht oder nur aerob vergärende, koagulase-negative und zumeist apathogene Species Staph. epidermidis aufgeteilt.

In der Literaturzusammenstellung soll vor allem wegen der in früheren Jahren sehr unterschiedlichen Definitionen grundsätzlich nur von Mikrokokken im Sinne der Familie Micrococcaceae gesprochen werden, sofern es sich nicht um eine angegebene Species handelt.

aa) Mikrokokken als hemmende Mikroorganismen

BABÈS (1887) berichtete erstmals über die hemmende Wirkung eines Mikrokokken-Stammes auf Bac. anthracis und auf andere Mikrokokken. DUJARDIN-BEAUMETZ (1937) stellte Hemmwirkungen von Mikrokokken auf verschiedene grampositive Bakterien, insbesondere Corynebakterien, fest. FREDERICQ (1946) untersuchte 5 Staphylokokken-Stämme auf ihre antibiotische Wirksamkeit. Dabei konnte er ein sehr spezifisches Verhalten gegenüber den als Reagenten verwendeten Bazillen- und Staphylokokken-Stämmen beobachten. Bei 26 von 205 (= 12.7 %) untersuchten Stämmen wiesen JENNINGS & SHARP (1947) wachstumsunterdrückende Wirkungen nach. Entsprechende Ergebnisse liegen auch von HALBERT et al. (1953) vor, die Antagonismen gegenüber anderen Mikrokokken, Bazillen, Corynebakterien und Sarcinen, nicht jedoch gegenüber Clostridien und Streptokokken fanden. Eine besonders deutliche Hemmung von Corynebakterien durch den Staph. aureus-Typ 71 ermittelten PARKER et al. (1955) und PARKER & SIMMONS (1959).

Eine Bestätigung dieser Ergebnisse lieferten BARROW (1963) und GRUMBACH (1965).

bb) Antagonistische Aktivitäten innerhalb der Gruppe der Mikrokokken

Neben den bereits unter aa) angeführten Arbeiten sind hier die Untersuchungen von HSU & WISEMAN (1967) zu erwähnen. Dabei waren 52 (= 4.9 %) von 1065 koagulase-positiven und 33 (= 8.5 %) von 387 koagulase-negativen Staphylokokken gegenüber Staph. aureus 209 P antagonistisch wirksam. Die dabei beobachteten Hemmwirkungen waren jedoch zu meist nur geringfügig. Berichte und Ergebnisse ähnlicher Untersuchungen finden sich bei POPOVICI et al. (1968), sowie bei LACHOWICZ und LACHOWICZ et al. (verschiedene Arbeiten, 1949 - 1968, zit. nach BRANDIS & SMARDA, 1971).

Ein dem Mc. aurantiacus nahestehender Mikrokokken-Stamm, der Staph. aureus unterdrückte und außerdem die Verderbnis von Salami verzögerte, wurde von NIINIVAARA (1957) isoliert.

cc) Hemmende Einflüsse auf Mikrokokken

Die Arbeiten über Mikrokokken als Reagenten nehmen einen sehr viel breiteren Raum ein. So finden sich bereits bei GARRE (1887), LEWEK (1889), OLITSKY (1891), GUNDEL & NIMSTEDT (1925) und RÉGNIER & LAMBIN (1934) entsprechende Hinweise. Während BLACKFORD et al. (1951) und COOK et al. (1953) einige Stämme der Coli-Aerogenes-Gruppe den Mikrokokken gegenüber als wirksam ermittelten, stellte WYNNE (1947) eine generelle deutliche Hemmung durch Aerobacter-Stämme fest. BOWLING & WYNNE (1951) sowie WYNNE & NORMAN (1953) beobachteten eine solche Wirkung auch noch bei 1 : 10000 verdünnten Aerobacter-Suspensionen. LOCKHART & POWELSON (1953) beschrieben antagonistische Wirkungen von Enterobacteriaceae gegenüber Mikrokokken, und HIGGINBOTTOM (1959) brachte Staph. aureus bei 30 °C innerhalb von 6 Stunden durch E. coli zum Absterben.

Lytische Prozesse bei *Staph. aureus*, hervorgerufen durch *Aeromonas*-Species, fanden COLES & GILBO (1967). VANDER-ZANT (1968) führte systematische Untersuchungen durch und beschrieb eine Hemmwirkung von *E. coli*, *Aerobacter* und *Sc. faecalis*, nicht jedoch von *Ps. fluorescens* und *Ps. fragi* gegenüber Mikrokokken. Dabei wies er auf die Abhängigkeit dieser Effekte vom Keimzahlverhältnis hin.

Nachdem zunächst MILLER (1955) über die Beeinflussung von Mikrokokken durch die normale Schweinefleisch-Mikroflora berichtet hatte, befaßte sich eine Arbeitsgruppe um FRAZIER, sowie auch einige andere Autoren mit der Einwirkung der Lebensmittelmikroflora auf Mikrokokken (OBERHOFER & FRAZIER, 1961; DACK & LIPPITZ, 1962; GRAVES & FRAZIER, 1963; TROLLER & FRAZIER, 1963a, b; SEMINIANO & FRAZIER, 1966; Mc COY & FABER, 1966; SPENCER, 1967; OBLINGER & KRAFT, 1970). Die genannten Autoren ermittelten übereinstimmend eine deutliche Hemmung der Mikrokokken durch Enterokokken, *Pseudomonas*-Species und Keime der *Coli-Aerogenes*-Gruppe. Eine nennenswerte Hemmung durch *Bac. cereus* konnte dagegen nicht regelmäßig nachgewiesen werden. Zudem konnte einer höhere Empfindlichkeit Enterotoxin-bildender *Staph. aureus*-Stämme sowohl hinsichtlich des Wachstums als auch der Toxinbildung beobachtet werden. Demgegenüber konnte LOTT (1971) bei seinen Versuchen mit 516 *Pseudomonas*-Stämmen gegenüber 2 koagulase-positiven *Staphylokokken* keine Wirkung feststellen.

Eine Wachstumsunterdrückung von *Staph. aureus* durch die psychrophile Mischflora bei 10 °C, sowie bei verschiedenen Kochsalz-Konzentrationen fanden PETERSON et al., (1962a, b, 1964). Zugleich wiesen sie auf die Zunahme der Überlebensfähigkeit mit steigenden Temperaturen hin.

dd) Synergistische Effekte durch und auf
Mikrokokken

Stimulierende Einflüsse durch Mikrokokken wurden lediglich bei DUJARDIN-BEAUMETZ (1932) und HALBERT et al. (1953) beschrieben. Demgegenüber berichteten zahlreiche Autoren über einzelne Fälle stimulierender Wirkungen von

Laktobazillen und Streptokokken auf verschiedene Staph. aureus-Stämme (LAMMERS, 1952; ROSEBURY et al., 1954; JONES et al., 1957; OBERHOFER & FRAZIER, 1961; SABINE, 1963; MARTH & HUSSONG, 1963; GRAVES & FRAZIER, 1963; REITER et al., 1964; IANDOLO et al., 1965; SEMINIANO & FRAZIER, 1966). KAO & FRAZIER (1966) fanden eine Stimulierung von Staph. aureus 196 E und W-1 durch Sc. faecalis und Sc. faecium während der ersten Stunden des gemeinsamen Wachstums und vor allem bei höheren Temperaturen, McCOY & FABER (1966) eine solche durch Bac. cereus bei Staph. aureus 196 E.

b) Enterobacteriaceae

Die Familie der Enterobacteriaceae kann man kurz charakterisieren als gramnegative, nicht sporenbildende stäbchenförmige Bakterien, die Glukose unter Bildung von Säure oder Säure und Gas fermentieren. Eine Übersicht über die taxonomische Einteilung sowie die weitere Abgrenzung untereinander soll im Abschnitt "Material und Methodik" gegeben werden.

aa) Enterobacteriaceae als hemmende Mikroorganismen

Erste Berichte über antagonistische Wirkungen coliformer Keime finden sich bei NISSLE (1916), LANGER (1917), GUNDEL & NIMSFEDT (1925), GUNDEL (1927), HASHIMOTO (1927), SHERMAN et al. (1928) und MANOLOV (1935). Nach KAMADA (1930) bewirkte E. coli eine starke Hemmung vor allem grampositiver Keime. GUNDEL & KLIWE (1932) ermittelten eine Hemmung von Bac. anthracis durch coliforme Keime. Kontrollversuche mit abgetöteten Zellen sowie mit keimfreien Filtraten verliefen jedoch negativ. WYNNE (1947) beobachtete antagonistische Wirkungen von Aerobacter-Stämmen gegenüber Staph. aureus, Salmonellen und verschiedenen Sporenbildnern. Die Frage, ob auch eine Abtötung der am deutlichsten gehemmten Keime stattfand, konnte er allerdings nicht klären. In weiterführenden Untersuchungen stellten

BOWLING & WYNNE (1951) Antagonismen wechselnden Ausmaßes fest, sie verneinten aber die Bildung antibiotischer Substanzen. Dagegen führten WYNNE & NORMAN (1953) bei späteren Versuchen die Wirkung von *A. aerogenes* auf *Staph. aureus*, *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, *Bac. polymyxa* und *Bac. anthracis* auf das Vorhandensein einer von ihnen nachgewiesenen antibiotischen Substanz zurück. BLACKFORD et al. (1951) prüften *Coli-Aerogenes*-Stämme gegenüber *Staph. aureus*, *E. coli* und verschiedenen *Salmonella*-Species, wobei sich *Salm. wichita* als besonders empfindlich erwies. Daneben konnten sie auch das Absterben der empfindlichen Keime registrieren. In ergänzenden Überprüfungen von *Coli-Aerogenes*-Stämmen mit *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Streptokokken* und *Clostridien* konnten COOK et al. (1953) bei 65 (= 79.2 %) von 82 untersuchten Stämmen antibiotische Aktivitäten beobachten. Dieser Prozentsatz liegt höher als der in früheren Arbeiten von HALBERT et al. (1951). Auch das antibiotische Spektrum erwies sich als wesentlich breiter, als bis dahin angenommen worden war. Eine Hemmung von Mikrokokken durch *Coli-Aerogenes*-Keime beschrieb auch HIGGINBOTTOM (1959). VANDERZANT (1968) berichtete über eine vom Keimzahlverhältnis abhängige Wachstumsbeeinflussung von Mikrokokken-, *Serratia*- und *Sarcinen*-Species durch solche coliformen Keime.

In jüngerer Zeit untersuchten einige Autoren verschiedene *Enterobacteriaceae*-Stämme gegenüber *Staph. aureus*. OBERHOFER & FRAZIER (1961) fanden einen *E. coli* und einen weiteren *Aerobacter*-ähnlichen *E. coli*-Stamm als besonders wirksam. GRAVES & FRAZIER (1963) ermittelten bei 438 (= 50.4 %) von 870 untersuchten Stämmen eine wachstumsunterdrückende Wirkung. Auf die Bildung antibiotischer Substanzen führten TROLLER & FRAZIER (1963a, b) die durch *E. coli* und *Prot. vulgaris* verursachten Antagonismen zurück. DIGIACINTO & FRAZIER (1966) setzten diese Arbeiten fort und konnten beobachten, daß *A. aerogenes*, *Klebsiella* sp. und "*Paracolobactrum aerogenoides*" nur durch von ihnen gebildete antibiotische Stoffe, *E. coli*, *E. freundii*, *Prot. vulgaris*, *Prot. morganii* und *A. cloacae* dagegen sowohl durch derartige Substanzen, als auch durch kompetitive Einflüsse hemmend wirkten. Einschränkend wiesen McCOY &

FABER (1966) darauf hin, daß "in vitro"-Versuche mit den natürlichen Verhältnissen in einem Biotop nur sehr bedingt vergleichbar seien.

An dieser Stelle soll noch auf die Hemmwirkung spezifischer antibiotischer Substanzen coliformer Keime, die sogenannten "Colicine" hingewiesen werden, über die in einem späteren Abschnitt zu berichten sein wird.

bb) Antagonistische Aktivitäten innerhalb der Gruppe der Enterobacteriaceae

WINSLOW & COHEN (1918) beschrieben einen Versuch mit einer Mischkultur, bestehend aus 54% Coli-Keimen und 46% Aerogenes-Keimen. Nach einer Lagerung in normalem Wasser über 60 Tage konnten sie nurmehr 29% Coli-Keime nachweisen.

Verschiedene Arbeiten befassen sich mit dem humanmedizinisch bedeutsamen Gebiet der Beeinflussung darmpathogener Mikroorganismen (HALBERT, 1948; GARDNER, 1950; GROSSO, 1950; LEVINE & TANIMOTO, 1954).

cc) Hemmende Einflüsse auf Enterobacteriaceae

Bei ROSEBURY et al. (1954) findet sich eine Angabe über eine Wachstumsbeeinflussung von *E. coli* durch *Sc. faecalis*. Weitere Berichte über hemmende Einwirkungen auf Enterobacteriaceae betreffen dagegen insbesondere die Gruppe der Laktobazillen, die in einer anderen Arbeit abgehandelt und hier deshalb nicht im einzelnen aufgeführt werden sollen. In jüngster Zeit ermittelten OBLINGER & KRAFT (1970) eine Unterdrückung von aus Geflügel isolierten *Salmonella*- und *Escherichia*-Species durch einen *Ps. fluorescens*-Stamm. Demgegenüber konnte LOTT (1971) eine solche Wirkung bei keinem der von ihm untersuchten 516 *Pseudomonas*-Stämmen beobachten.

dd) Synergistische Effekte durch und auf Enterobacteriaceae

SILBER & NIKOLSKAJA (1929) berichteten über einen solchen Fall. Durch Bebrüten einer Mischkultur von "Typhus"-Bazillen und *Prot. vulgaris* in Mannit-Pepton-Wasser erzielt

ten sie Gasbildung, obwohl für sich allein keiner dieser beiden Stämme ein solches Verhalten zeigte.

In neuerer Zeit sind bei GRAVES & FRAZIER (1963) Angaben über stimulierende Einflüsse von Enterobacteriaceae auf Staph. aureus gemacht worden. YEOH et al. (1968) konnten feststellen, daß in einem Niacin- und Biotin-haltigen Medium Prot. vulgaris und Bac. polymyxa nicht in Reinkulturen, sondern ausschließlich in einer Mischkultur anwuchsen. Als überraschend bezeichneten die Autoren, daß dies trotz einer Hemmwirkung frischer Prot. vulgaris-Kulturüberstände gegenüber Bac. polymyxa auftrat. Sie folgerten daraus, daß der Prot. vulgaris-Hemmfaktor nur sehr kurzfristig Bestand haben könne, denn in etwa 8 Stunden alten oder in kurz aufgekochten Überständen wurden Hemmeffekte nicht mehr ermittelt.

c) Streptococcaceae

Im wesentlichen sollen in dieser Arbeit Angaben über die Streptokokken der serologischen Gruppe D gemacht werden, während über Milchstreptokokken in einer anderen Arbeit berichtet wurde (REUTER, 1972).

aa) Streptokokken als hemmend wirkende Mikroorganismen

Frühere, sich fast ausschließlich mit Milchbakterien befassende Arbeiten sind schon im Abschnitt über die geschichtliche Entwicklung angeführt worden. Die Wirkungsweise dieser Organismen wurde zum Teil der gebildeten Milchsäure zugeschrieben (ROGERS, 1928; RITTER, 1950, 1952, 1956; MARTH & HUSSONG, 1963), wobei jedoch auch von diesen Autoren die Bedeutung antibiotischer Wirkstoffe, wie sie von WHITEHEAD & RIDDET (1938), MEANWELL (1943) und OXFORD (1944) angegeben wurden, nicht ausgeschlossen werden konnten.

THOMPSON & SHIBUYA (1946) berichteten über wachstumshemmende Effekte von Sc. salivarius auf Diphtheriebakterien.

Hemmwirkungen besonders auf *Sc. pyogenes* und *Diplococcus pneumoniae* sowie auf *Cl. welchii* zeigten 3 *Sc. durans*- und 16 *Sc. faecalis* var. *zymogenes*-Stämme (STARK, 1960).

Einen alpha-hämolysierenden, lysogenen und telluritempfindlichen *Sc. faecium*-Stamm untersuchten BRANDIS & BRANDIS (1962). Sie beobachteten eine Hemmung gegenüber 10 *Staph. aureus*-Stämmen, sowie einzelnen *Corynebact. diphtheriae*-, *Bac. subtilis*- und *List. monocytogenes*-Species, sowie 3 Enterokokken- und 12 Streptokokken-Stämmen der serologischen Gruppe A. Gramnegative Arten erfuhren dagegen keine Beeinträchtigung.

Über deutliche antagonistische Wirkungen von Enterokokken besonders gegenüber Enterotoxin-bildenden Staphylokokken berichteten OBERHOFER & FRAZIER (1961). KAFEL & AYRES (1969) ergänzten diese Angaben hinsichtlich der Bazillen und Clostridien, die sie nur sehr selten in stark mit Enterokokken kontaminierten Fleischerzeugnissen finden konnten.

Eingehende Untersuchungen über die Bildung verschiedener antibiotischer Wirkstoffe durch Enterokokken führten BROCK et al. (1963) und BROCK & DAVIE (1963) durch. Sie konnten dabei ein sehr differenziertes Verhalten bei *Sc. faecalis* var. *zymogenes* nachweisen. Proteolytische Arten dieser Species zeigten nur gegenüber einigen wenigen anderen Keimarten Hemmeffekte, wogegen hämolytische Arten vor allem gegenüber zahlreichen grampositiven Keimarten deutlich antagonistisch wirkten.

Während BRANDIS & BRANDIS (1966) eine Beeinflussung des Wachstums von *Staph. aureus*, *Bac. subtilis*, *Salm. enteritidis*, *S. typhimurium*, *Shig. sonnei* und *E. coli* durch *Sc. faecalis*, *Sc. faecalis* var. *liquefaciens* und *Sc. faecium* verneinten, fanden KALMANSON et al. (1970) einzelne Arten durch *Sc. faecalis* und *Sc. faecalis* var. *zymogenes* beeinflussbar. Eine Wachstumsunterdrückung von *E. coli*, *A. aerogenes* und anderen Keimen wies auch VANDERZANT (1968) nach.

bb) Antagonistische Aktivitäten innerhalb der Gruppe der Streptokokken

Außer den schon unter aa) angeführten Berichten sei hier noch auf einige andere Arbeiten verwiesen (GREEN & DODD, 1956; BRANDIS & BRANDIS, 1963; BRANDIS et al., 1965; TZANNETIS et al., 1970).

cc) Hemmende Einflüsse auf Streptokokken

Diesbezügliche Angaben finden sich nur bei DI-MICK et al. (1947) - durch Subtilin - und bei COOK et al. (1953) - durch colicine Substanzen -, sowie bei OBLINGER & KRAFT (1970) durch einen Ps. fluorescens-Stamm.

dd) Synergistische Effekte bei und durch Streptokokken

Nur KAO & FRAZIER (1966) beschrieben die stimulierende Wirkung einiger Enterokokken auf verschiedene Staph. aureus-Stämme, besonders bei für die letzteren optimalen höheren Temperaturen.

d) Aeromonas-Pseudomonas-Gruppe

Die Mikroorganismen dieser Gruppe sind gramnegative, nicht sporenbildende, aerob wachsende Stäbchen, die eine positive Cytochromoxydase-Reaktion zeigen. Gegenüber den Pseudomonas-Arten spaltet Aeromonas Glukose anaerob und bildet Gas aus Glukose.

aa) Aeromonas-Pseudomonas-Arten als hemmende Mikroorganismen

Pseudomonas-Arten wurden schon frühzeitig als antagonistisch wirksame Keime beschrieben, wobei jedoch die Angaben sowohl über die beeinflussten Species, als auch über Art und Ursache dieser Reaktionen widersprüchlich sind (GARRE, 1887; LEWEK, 1889; OLITSKY, 1891; LAWS & ANDREWES, 1891; FROST, 1904; CONN & BRIGHT, 1919). LEWIS (1929) fand

eine antibiotische Substanz bei *Ps. fluorescens*, die er als bakteriostatisch und bakterizid wirkend beschrieb, und zwar vor allem gegenüber Mikrokokken und Sporenbildnern, nicht jedoch gegenüber "Colonbakterien". Außerdem wies er auf die Abhängigkeit solcher Hemmeffekte vom verwendeten Substrat, von der Anwachsrate, der Höhe der Ausgangsinocula und der Empfindlichkeit der verwendeten Testorganismen hin. Bei systematischen Untersuchungen mit *E. coli*, Mikrokokken und *Serratia* zeigten weder *Ps. fluorescens* noch *Ps. fragi* hemmende Wirkungen (VANDERZANT, 1968).

Die Wirksamkeit einzelner *Pseudomonas*-Species auf *Staph. aureus* untersuchten OBERHOFER & FRAZIER (1961), TROLLER & FRAZIER (1963 a, b), SEMINIANO & FRAZIER (1966) und MCCOY & FABER (1966). Eine deutliche Beeinflussung durch einen *Ps. fluorescens*-Stamm auf aus Geflügel isolierte *Salmonella*-, *Escherichia*-, *Staphylokokken*- und *Streptokokken*-Arten beobachteten OBLINGER & KRAFT (1970). Diese Wirkung war auf Agar ausgeprägter als in flüssigen Medien, sie war auch bei vergleichsweise niedrigen *Pseudomonas*-Keimzahlen erfaßbar und schien in ihrer Effektivität mit der Pigmentbildung zu korrelieren. Demgegenüber konnte LOTT (1971) bei seinen Versuchen mit 516 *Pseudomonas*-Stämmen das Wachstum verschiedener Lebensmittelmikroorganismen in keinem Fall beeinträchtigen.

Das Auftreten lytischer Prozesse gegenüber einigen *Staph. aureus*-Stammformen stellten COLES & GILBO (1967) bei einer *Aeromonas*-Species fest.

bb) Antagonistische Aktivitäten innerhalb der *Aeromonas-Pseudomonas*-Gruppe

Die Bildung spezifischer antibiotischer Substanzen, deren Wirkungsspektrum auf die Gruppe der *Pseudomonas*-den beschränkt ist, beschrieben JACOB et al. (1953). Zahlreiche Arbeiten kamen in der Folge zu dem Ergebnis, daß nur sehr wenige *Pseudomonas*-Arten durch solche "Pyocine" unbeeinflusst bleiben (HAMON, 1956; HAMON et al., 1961; HAMAMURA, 1962; PATERSON, 1965 a, b).

cc) Hemmende Einflüsse auf Pseudomonas-Arten

WYNNE (1947) berichtete über eine Hemmung von Pseudomonas-Species durch Aerobacter-Stämme, ohne jedoch über deren Ursachen weitere Angaben zu machen. COOK et al. (1953) fanden nur einen von 5 untersuchten Pseudomonas-Stämmen durch coliforme Keime beeinflussbar, wogegen JENNINGS & SHARP (1947) eine solche Hemmung bei Ps. pyocyaneus nicht beobachten konnten. Die antagonistische Wirkung von Milchsäurebakterien auf Pseudomonaden wurde von REUTER (1972) überprüft.

e) Bacillaceae

Zur Familie Bacillaceae rechnet man die aerob wachsenden Stäbchen des Genus Bacillus und die streng anaerob wachsenden Stäbchen des Genus Clostridium. Die beiden Species sind grampositiv, sporenbildend und zumeist beweglich.

Wenngleich in der früheren Literatur sehr oft von "Bazillen" als hemmend oder stimulierend wirkenden Organismen die Rede ist, so muß dabei doch berücksichtigt werden, daß sehr viele dieser beschriebenen Keimarten inzwischen anderen Familien und Arten zugerechnet werden. Aus diesem Grund werden in der Folge nur neuere Arbeiten angeführt.

aa) Bacillaceae als hemmende Mikroorganismen

IVÁNOVICS et al. (1955) beobachteten eine Wachstumsbeeinflussung einiger Mikrokokken- und Bazillen-Species durch eine von Bac. megaterium gebildete antibiotische Substanz. Eine Wirkung gegenüber gramnegativen Arten, sowie gegenüber Streptokokken und Diplokokken konnten sie nicht feststellen. LOCKHART & POWELSON (1953), OBERHOFER & FRAZIER (1961) und TROLLER & FRAZIER (1963 a, b) beschrieben einige Bacillus-Species als gegenüber Staph. aureus geringfügig hemmend. Sie führten dieses auf eine antibiotische Substanz zurück, verwiesen aber gleichzeitig auf die Abhängigkeit einer solchen Hemmung von der Höhe der Ausgangsinocula.

Während TUBYLEWICZ (1966 a, b) eine antagoni-
stische Wirkung von *Cl. perfringens* gegenüber 37 verschie-
denen grampositiven und gramnegativen Species nicht ermit-
teln konnte, fanden SASARMAN & ANTOHI (1969) bei einem
Großteil der von ihnen untersuchten *Bac. cereus*- und *Bac.*
anthracis-Stämme eine deutliche Empfindlichkeit gegenüber
Cl. perfringens. Bei *Bac. subtilis*, *Corynebact. diphthe-*
riae, *Sc. pyogenes* und *Staph. aureus* konnten sie eine Be-
einflussung nur in einzelnen Fällen beobachten.

bb) Antagonistische Aktivitäten innerhalb
der Gruppe der Bacillaceae

Abgesehen von den bereits unter aa) zitierten
Fällen einer Hemmung zwischen Bazillen und Clostridien
handelt es sich hierbei zumeist um Aktivitäten innerhalb
der einzelnen Genera. Nur SKULBERG (1964) beschrieb eine
Beeinflussung des *Cl. botulinum*-Toxins durch proteolyti-
sche *Bac. cereus*- und *Cl. sporogenes*-Enzyme.

Die Bildung bakterienhemmender Substanzen mit
teilweise nur stammspezifischer Wirksamkeit durch *Bacillus*-
Species wurde von verschiedenen Autoren erwähnt (IVÁNOVICS
1962, 1965; HOLLAND & ROBERTS, 1963, 1964; HOLLAND, 1966).
GOULD (1954) beschrieb eine Hemmwirkung von Subtilin, ei-
nem antibiotischen Wirkstoff von *Bac. subtilis*, gegenüber
einigen *Bacillus*-Arten, beschränkte diese jedoch nur auf
einen kurzen Zeitraum nach der Sporulierung.

Ähnliche Hinweise für Clostridien finden sich
bei SASARMAN & ANTOHI (1963), BETZ & ANDERSON (1964), TU-
BYLEWICZ (1966 a, b), HONGO et al. (1968), BEERENS & TAHON
(1970) und ELLISON & KAUTTER (1970).

cc) Hemmende Einflüsse auf Bacillaceae

WYNNE (1947) und BOWLING & WYNNE (1951) beschrie-
ben einen Fall von Antagonismus gegenüber Bazillen durch
Coli-Aerobacter-Species; WYNNE & NORMAN (1953) führten
dies auf das Vorliegen antibiotischer Stoffe zurück. Wäh-
rend COOK et al. (1953) diese Resultate bestätigten, konn-

ten TROLLER & FRAZIER (1963 b) eine Beeinträchtigung von *Bac. subtilis* durch *E. coli* nicht nachweisen.

Die deutliche Zersetzung des Botulinum-Toxins durch *Cl. perfringens* und andere Anaerobier im Tierversuch beobachtete DACK (1926). GUNDEL & KLIEWE (1932) ermittelten eine Hemmung durch coliforme Species, wogegen COOK et al. (1953) in entsprechenden Versuchen zu abweichenden Ergebnissen kamen. Allerdings konnten sie feststellen, daß ein als Colicinbildner bekannter Stamm bei anaerober Kultivierung diese Eigenschaft verlor und die ausgebliebene Hemmwirkung dadurch erklärbar wurde. Nach SKULBERG (1964) wird *Cl. botulinum* durch *Sc. faecalis* und *E. coli*-Filtrate, sowie wie bereits oben erwähnt durch *Bac. cereus* und *Cl. sporogenes* unterdrückt.

dd) Synergistische Effekte durch und auf
Bacillaceae

SWARTLING & LINDGREN (1963) beschrieben eine deutliche Stimulierung sowohl des Wachstums als auch der Buttersäurebildung bei Clostridien und anderen Buttersäurebildnern durch Keime der Coli-Aerogenes-Gruppe und *Bac. subtilis*. Laktobazillen und Milchstreptokokken zeigten in dieser Hinsicht ein differentes Verhalten; *Sc. faecalis*, *Sc. durans*, *Bac. cereus* und *Pseudomonas* sp. bewirkten nur bei einigen Clostridien-Stämmen eine Stimulierung. Die Autoren stellten teilweise eine so starke Stimulierung fest, daß Wachstum sogar unter nicht streng anaeroben Bedingungen möglich wurde. SKULBERG (1964) gab an, daß *Ps. fluorescens* und *Ps. fragi* die Toxinbildung unter aeroben Bedingungen günstig beeinflussten. Schließlich erwähnten YEOH et al. (1968) die stimulierende Wirkung eines *Prot. vulgaris*-Stammes auf *Bac. polymyxa*.

4. Faktoren und Wirkungsmechanismen der
Mikrobiocoenose

Die Beeinflussung einzelner oder mehrerer Keim-

gruppen in einem so vielschichtigen und so verschiedenartig zusammengesetzten Biotop, wie es Lebensmittel gemeinhin darstellen, kann von vielen Faktoren abhängen.

Wie schon in der Einleitung kurz angedeutet, lassen sich die Faktoren und Wirkungsmechanismen mikrobiocoenotischer Prozesse in zwei Gruppen einteilen:

- a) Durch die Zusammensetzung und Bestandteile des Substrates, sowie durch die Physiologie des Erregers bedingte Beeinflussungen
- b) Durch Erregerprodukte hervorgerufene Beeinflussungen.

Bei der nun folgenden Literaturübersicht sollen solche Wirkungen unberücksichtigt bleiben, die auf einer technologischen Anwendung bakteriostatischer oder bakterizider Substanzen beruhen, wie zum Beispiel Konservierungsmittel und Antibiotika.

a) Durch Zusammensetzung und Bestandteile des Substrates, sowie durch die Physiologie des Erregers bedingte Beeinflussungen in mikrobiocoenotischen Prozessen

aa) Nährstoffangebot und -verwertung

Hier ist zwischen substratbedingtem Nährstoffangebot und der erregerbedingten Fähigkeit zur Verwertung bestimmter Nährstoffe zu unterscheiden. Die unterschiedliche Verwertung angebotener Nährstoffe durch einzelne Erregergruppen führt zu dem schon erwähnten Begriff des kompetitiven Wachstums. Es soll an dieser Stelle nur kurz auf den von BAIL (1929) in die Literatur eingeführten und von v. WIKULLIL (1932) ergänzten Begriff der "Maximalen oder M-Konzentration" hingewiesen werden. BAIL versteht darunter die für jedes Bakterium spezifische Zahl lebender Keime, die in einem durch eine bestimmte Menge Nährmedium vorgegebenen Lebensraum vorhanden sein können. Jedes Bakterium benötigt für sich einen ganz bestimmten essentiellen Lebens-

raum; ist dieser ausgefüllt, so kommt die Vermehrung scheinbar zum Stillstand, ohne daß das Medium erschöpft ist oder daß schädliche Stoffwechselprodukte nachweisbar sind. WILSON & MILES (1946) versuchten dieses Phänomen mit der Erschöpfung des Sauerstoffvorrates zu erklären, während HIRSCH (1951) für die Beendigung des Wachstums vom Erreichen einer, der "M-Konzentration" entsprechenden maximalen Populationsdichte sprach.

Das kompetitive Wachstum beruht im wesentlichen auf einer ähnlichen Basis. Die Brauchbarkeit eines Nährmediums hängt primär vom Vorhandensein und sekundär von der Menge der notwendigen "essentiellen" Wachsstoffe ab. Der Verbrauch dieser Wachsstoffe durch Mikroorganismen mit höherer Wachstumsgeschwindigkeit, bzw. kürzerer Generationszeit kann eine wachstumsbegrenzende Funktion ausüben, und man bezeichnet solche Stoffe daher auch als "limitierende Faktoren" (BARNES, 1931; NIVEN jr., 1944; HIRSCH, 1951; LOCKHART & POWELSON, 1953; GRECZ et al., 1959). OBERHOFER & FRAZIER (1961) und TROLLER & FRAZIER (1963 b) beschrieben ein solches Verhalten bei *Staph. aureus*, der durch *E. coli* und einen *Pseudomonas*-Stamm gehemmt wurde. TROLLER & FRAZIER wiesen auch auf die, für Staphylokokken essentiellen Aminosäuren Cystin, Valin, Glycin, Prolin, Arginin und Asparaginsäure hin, die sehr leicht durch andere Mikroorganismen verwertet werden können. Finden also langsamer wachsende Keimarten nicht mehr ausreichend Nährstoffe, so geraten sie in der Folge weiterhin in Verzug. HENTGES & FRETER (1962) und FRETER (1962) konnten in einem solchen Fall durch Zusatz von Glukose oder anderen Kohlenhydraten eine zuvor beobachtete Hemmung aufheben. Eine weitere Wachstumsunterdrückung wird durch eine für andere Keimarten ungünstige Milieuveränderung - beispielsweise durch Bildung von Stoffwechselprodukten - ermöglicht. So konnte HIRSCH (1951) durch Neutralisierung entstandener Milchsäure bei noch reichlichem Kohlenhydratangebot auch ein Wachstum zuvor gehemmter Keime erreichen.

bb) Sauerstoffzufuhr

Eine Abhängigkeit ist hier durch die Tatsache gegeben, daß es obligat anaerob, wie auch obligat aerob wachsende Keimarten gibt, sowie Keimarten mit unterschiedlicher Sauerstoffempfindlichkeit. In einem stark durchlüfteten Lebensmittel wird das Wachstum von Anaerobiern erschwert, während das in den tieferen Schichten von Lebensmitteln umgekehrt für Aerobier zutrifft. RAHN & RICHARDSON (1944) beobachteten eine Wachstumsverzögerung durch Luftzufuhr bei Streptokokken; PETERSON et al. (1962 a, b, 1964) und TROLLER & FRAZIER (1963 a) hingegen verneinten eine Abhängigkeit antagonistischer Effekte von der Sauerstoffmenge. Darüber hinaus besteht nach LEWIS (1929) bei der Bildung antibiotischer Stoffe eine Abhängigkeit von der Sauerstoffzufuhr. Auch COOK et al. (1953) konnten nachweisen, daß ein als Colicinbildner bekannter E. coli-Stamm diese Fähigkeit im anaeroben Milieu verlor und die erwartete Hemmung von Anaerobiern nicht eintrat.

cc) Temperatur

Die Vermehrung von Mikroorganismen wird durch Temperaturgrenzbereiche limitiert. Daraus resultiert die Einteilung in thermo-, meso- und psychrotrophe Gruppen. Dabei endet die Vermehrung jedoch nicht abrupt, sondern es kommt in den Grenzbereichen zu einer stetigen Verlangsamung des Wachstums. Daraus läßt sich erkennen, daß bei unterschiedlichen Lagerungstemperaturen in Mischpopulationen verschiedenartige Keimfloraentwicklungen möglich sind.

OBERHOFER & FRAZIER (1961) wiesen auf diese Abhängigkeit hin. PETERSON et al. (1962 a) beschrieben eine verstärkte Wachstumshemmung von Staphylokokken durch psychrophile Keime bei Temperaturen um 10 °C. KAO & FRAZIER (1966) fanden Kühlfleisch-Laktobazillen und Leuc. dextranicum gegenüber Staph. aureus vor allem im Bereich von 10 - 25 °C hemmend, Sc. faecium var. liquefaciens sogar noch bei 37 °C. Außerdem konnten sie bei höheren Temperaturen besonders in den ersten Stunden eine mehr oder weniger deutliche Stimulierung der Staphylokokken beobachten. Dem-

nach ordneten sie die von ihnen untersuchten Mikroorganismen in drei Gruppen ein:

1. bei höheren Temperaturen stimulierende Arten
2. nur bei niedrigen Temperaturen hemmende Arten
3. bei allen Temperaturen hemmende Arten

GRAVES & FRAZIER (1963), MCCOY & FABER (1966) und DIGIACINTO & FRAZIER (1966) stellten eine verstärkte Hemmwirkung coliformer Keime gegenüber *Staph. aureus* bei sinkenden Temperaturen fest.

dd) Zeit

Die Abhängigkeit antagonistischer Wirkungen von der Dauer der Lagerung wurde nur von einigen Autoren untersucht.

BARIBO & FOSTER (1951) fanden die stärkste Hemmung durch Milchstreptokokken und Laktobazillen bis etwa zur 24. Stunde; die maximale Hemmung war nach ca. 60 Stunden erreicht und nach 110 Stunden nahezu verschwunden. Ähnliche Ergebnisse beschrieben HOYLE & NICHOLS (1948) und BARROW (1963). Bei Untersuchungen mit Milchsäurebakterien gegenüber Staphylokokken, Bazillen, Enterobacteriaceae und *Aeromonas-Pseudomonas*-Species fand REUTER (1972) in der ersten, logarithmischen Wachstumsphase eine stärkere Beeinträchtigung durch Streptokokken, während in der zweiten, stationären Phase die homofermentativen Laktobazillen auf Grund ihrer intensiven Milchsäureanreicherung eine ausgeprägte Wachstumsunterdrückung herbeiführten.

Bei *Aerobacter*-Stämmen konnten BOWLING & WYNNE (1951) eine über 72 Stunden gleichbleibend deutliche Hemmung gegenüber Bazillen, *S. paratyphi* und *Staph. aureus* feststellen.

Durch verschiedene Enterobacteriaceae-Species wurde *Staph. aureus* bereits nach 6 - 10 Stunden gehemmt; nach 24 - 36 Stunden ging diese Wirkung dann wieder zurück (TROLLER & FRAZIER, 1963 a).

ee) pH-Wert

Auch hier ist - ähnlich wie bei der Temperaturabhängigkeit - eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Mikroorganismen in den Grenzbereichen vorhanden. Diese Tatsache ist bei der Beurteilung der Entwicklungsfähigkeit einzelner Arten in Mischpopulationen ebenso zu beachten, wie auch die Frage des Puffervermögens eines Lebensmittels, das heißt, die Fähigkeit, durch lebensmittel-eigene Bestandteile bestimmte Mengen gebildeter Säuren mikrobieller Herkunft zu binden und dadurch die pH-Wert-Änderung gering zu halten (MOSSEL, 1969).

TROLLER & FRAZIER (1963 a), BARROW (1963) und HSU & WISEMAN (1967) ermittelten für Staphylokokken als optimalen Wachstumsbereich pH-Werte zwischen 6.2 und 7.8. Nach PETERSON et al. (1962 c) kamen hierfür pH-Werte von 5.0 bis 9.0 in Betracht; in den oberen und unteren Grenzbereichen nahm das Wachstum der Staphylokokken allerdings progressiv ab, nicht jedoch das der anderen Mikroorganismen aus der Begleitflora. Entsprechende Werte für *Bac. cereus* ermittelten PIVOVAROV & KUKHTO (1970). Sie konnten unter einem Wert von 5.0 kein Wachstum mehr feststellen, oberhalb von 5.5 trat jedoch ein kontinuierliches Wachstum ein. Für Salmonellen führten ALFORT & PALUMBO (1971) ähnliche Untersuchungen durch.

Die Hemmwirkung von Milchkeimen führten einige Autoren auf den durch ihre Milchsäurebildung bedingten pH-Wert zurück (WHITE & HILL, 1949; HIRSCH, 1951; RITTER, 1950, 1952; TRAMER, 1966), jedoch schloß RITTER schon 1950 die Mitwirkung auch anderer Faktoren nicht aus. TROLLER & FRAZIER (1963 a, b), MARTH & HUSSONG (1963) und KAFEL & AYRES (1969) glaubten die alleinige Wirkung des pH-Wertes gleichfalls verneinen zu können. TRAMER (1966) fand bei Versuchen mit Salzsäure zur Einstellung bestimmter pH-Werte zwar eine entsprechende Wirkung, doch war die Hemmung durch Milchsäure bei gleichem pH-Wert schneller erreichbar und zudem besser erkennbar - möglicherweise auf Grund einer spezifischen Säurewirkung -, sodaß nicht der pH-Wert allein, sondern auch das diesen bewirkende Agens von Ausschlag sein kann.

ff) Kochsalz-Konzentration

Das Keimwachstum sowohl von Rein- als auch von Mischkulturen hängt nicht unwesentlich von der NaCl-Konzentration ab. Es sei in diesem Zusammenhang auf entsprechende Arbeiten über die Ökologie der Lebensmittel hingewiesen (INGRAM, 1955; KAFEL & MAJEWSKA, 1961; CAVETT, 1962; EDDY & INGRAM, 1962; TONGE et al., 1964; KAFEL & AYRES, 1969; TAKÁCS & SIMONFFY, 1970; INGRAM & DAINTY, 1971).

PETERSON et al. (1962 b, c) stellten eine Beeinflussung von Staph. aureus durch eine psychrophile Mischflora in Abhängigkeit von Temperatur und NaCl-Gehalt fest. Während bei Temperaturen über 37 °C Wachstum auch noch bei einer NaCl-Konzentration von 5.5% stattfand, war bei 10 °C bei allen überprüften NaCl-Konzentrationen eine mehr oder weniger deutliche Hemmung zu beobachten. Zu noch höheren Werten hinsichtlich des NaCl-Gehaltes kamen HOJVAT & JACKSON (1969), die eine Vermehrung von Staph. aureus sogar noch bei einem Gehalt von 12% NaCl bei 20 - 35 °C ermittelten. Allerdings konnten sie auch nachweisen, daß die Toxinbildung bei 35 °C schon bei 4% NaCl deutlich abgeschwächt war, und daß bei niedrigeren Temperaturen auch geringere Kochsalzmengen zur völligen Ausschaltung der Toxinbildung genügten. Die Autoren folgerten daraus, daß die Anwesenheit von Staph. aureus nicht notwendigerweise auch das Vorliegen von Enterotoxinen bedingt. Auch MÜLLER & STOJANOW (1971) wiesen auf die Bedeutung der NaCl-Konzentration für durch Staph. aureus bedingte Lebensmittelvergiftungen hin.

Die Wachstumssteigerung von Prot. vulgaris sowohl in gewöhnlicher als auch in glukosehaltiger Bouillon, sowie eine erhöhte Glukose-Verwertung und Säurebildung bei Anwesenheit von Kochsalz beschrieb CRISLEY (1963). Hinsichtlich der Salmonellen kamen ALFORT & PALUMBO (1971) zu ähnlichen Ergebnissen wie PETERSON u. Mitarb. und HOJVAT & JACKSON. Sie konnten das Wachstum von Salmonellen bei 10 °C noch bei einem NaCl-Gehalt von 3.5% feststellen, jedoch nicht mehr bei 5.0% NaCl. Bei über 30 °C waren alle überprüften Konzentrationen bis 8.0% NaCl für eine Wachstumsbeeinflussung ohne die Mitwirkung anderer Faktoren

nicht mehr ausreichend.

Die Abhängigkeit des Clostridienwachstums von der Höhe der Kochsalz-Konzentration erwähnte SPENCER (1969).

gg) Wasseraktivität

Nicht der Wassergehalt eines Lebensmittels ist für die Entwicklungsmöglichkeiten von Mikroorganismen aller Art ausschlaggebend, sondern der Anteil des ungebundenen Wassers, der den Keimen zur Verfügung steht. Dieser Anteil kann auch im osmotischen Druck des Lebensmittels zum Ausdruck gebracht werden, oder nach dem von SCOTT (1957) eingeführten Parameter

$$a_w = \frac{\text{Wasserdampfspannung über dem Lebensmittel}}{\text{Partialdruck des reinen Wassers bei gleicher Temperatur}}$$

wobei a_w als Symbol für die Wasseraktivität steht (zit. nach MOSSEL, 1969). Weitere Hinweise auf die Bedeutung des a_w - Wertes finden sich bei RÖDEL & LEISTNER (1971).

Zwar sind bei WODZINSKI & FRAZIER (1961), LIMSONG & FRAZIER (1966), BAIRD-PARKER & FREAME (1967), STRONG et al., (1970), HESS (1970) und VRCHLABSKÝ & LEISTNER (1970) Angaben über die Abhängigkeit bakteriellen Wachstums von der Wasseraktivität zu finden, doch betreffen diese nicht das Wachstum in Mischpopulationen.

b) Durch Erregerprodukte hervorgerufene Beeinflussungen mikrobiocoenotischer Prozesse

Die von Mikroorganismen gebildeten antagonistisch wirksamen Substanzen lassen sich nach WHEATER et al. (1952) und MOSSEL & INGRAM (1955) zweckmäßigerweise in zwei Gruppen einteilen:

- aa) Stoffwechselprodukte mit einfacheren Molekülen und zumeist relativ unspezifischer Wirksamkeit
- a') organische Säuren
- b') Wasserstoffperoxyd
- c') andere Stoffwechselprodukte dieser Art

bb) komplexere antibiotische Substanzen mit meist sehr spezifischer Wirksamkeit

- a') antibiotische Substanzen bei Mikrokokken
- b') antibiotische Substanzen bei Enterobacteriaceae
- c') antibiotische Substanzen bei Streptokokken
- d') antibiotische Substanzen bei Keimen der Aeromonas-Pseudomonas-Gruppe
- e') antibiotische Substanzen bei Bacillaceae

aa) Stoffwechselprodukte mit einfacheren Molekülen

a') organische Säuren

Hier sind vor allem Laktobazillen und Milchstreptokokken als Säurebildner anzuführen.

Neben ROGERS (1928) berichteten SHERMAN et al. (1928) über Fälle von Wachstumsunterdrückung durch gebildete Milchsäure. ROGERS & WHITTIER (1928), BERNHEIMER & PAPPENHEIMER jr. (1942) und HIRSCH (1951) kamen zu entsprechenden Ergebnissen, nachdem sie zur Kontrolle durch Neutralisierung gebildeter Säuren eine deutliche Wachstumszunahme erzielen konnten. In neueren Arbeiten wurde eine ausschließlich durch Milch- oder andere organische Säuren bedingte Hemmwirkung verneint (BARIBO & FOSTER, 1951; RITTER, 1952; MARTH & HUSSONG, 1963). Jedoch wurde verschiedentlich eine wesentliche Erniedrigung des pH-Wertes als Voraussetzung für antagonistische Effekte beschrieben (MARTH & HUSSONG, 1963; KAFEL & AYRES, 1969). Eine deutliche Hemmung auf Grund solcher organischer Säuren fand REUTER (1971, 1972) erst nach einer längeren Kultivierungsdauer in der stationären Phase, wogegen er für vorher eintretende Beeinflussungen in der logarithmischen Phase die Anwesenheit antibiotischer Stoffe als Ursache ansah.

b') Wasserstoffperoxyd

Der Einfluß von Wasserstoffperoxyd (H_2O_2) bei mikrobiocoenotischen Vorgängen wurde zwar gelegentlich erwähnt (BETHGE et al., 1947; HEGEMANN, 1950; WHEATER et al.,

1951, 1952; BERGER, 1952); doch während RITTER (1956) eine Mitwirkung anderer Faktoren nicht ausschließen konnte, verneinten TROLLER & FRAZIER (1963 b), sowie PETERSON et al. (1962 c) auf Grund ihrer Untersuchungen eine Abhängigkeit antagonistischer Prozesse von Wasserstoffperoxyd.

c') andere Stoffwechselprodukte

Andere Stoffwechselprodukte, so z.B. toxische Abbauprodukte aus abgestorbenen Bakterienzellen (DOZIER, 1924), wurden nur in früheren Arbeiten genannt (FROST, 1904; ETINGER-TULCZYNSKA, 1932; GUNDEL & KLIEWE, 1932). Doch bleibt zu berücksichtigen, daß es sich dabei sehr gut auch um Säuren oder andere hemmend wirkende Substanzen von damals noch unbekannter Qualität gehandelt haben könnte. Dies kann entsprechend zu den Literaturangaben über antagonistisch wirksame Enzyme und Fermente gesagt werden, die zuweilen Erwähnung fanden (EMMERICH & LOEW, 1889; AVERY & DUBOS, 1931).

bb) Antibiotische Substanzen komplexerer Natur

Bevor auf die antibiotischen Substanzen im einzelnen eingegangen werden kann, bedarf es noch einer wesentlichen Differenzierung. Als "antibiotische Substanz" versteht man, wie schon früher in dieser Arbeit erwähnt, von Bakterien produzierte Stoffe, die gegenüber einem mehr oder minder breiten Spektrum von Mikroorganismen mikrobiocoenotische Wechselwirkungen auslösen. Als eine Untergruppe sind in dieser Gruppe die "Bacteriocine" zu begreifen, als deren Grundvoraussetzung eine Hemmwirkung auf die eigene Keimart verlangt wird.

Die Forschung gerade über die Bacteriocine begann mit den Untersuchungen von GRATIA (1925) und GRATIA & FREDERICQ (1946) über Colicine. Während in der letzteren Arbeit als ausreichende Charakterisierung für Colicine deren Bildung durch E. coli-Stämme angesehen wurde, ist es nach JACOB et al. (1953) notwendig, daß eine antagonistische

sche Wirksamkeit gegenüber *E. coli*-Stämmen vorliegt. Colicine in diesem Sinne können auch durch andere Enterobacteriaceae-Species als *E. coli* gebildet werden und auch gegenüber anderen als *E. coli*-Stammformen antagonistisch wirksam sein. Diese Formulierung gilt sinngemäß auch für die anderen Bacteriocin-ähnlichen Substanzen, die von den übrigen Keimarten gebildet werden.

Es sei eingangs der folgenden Literaturübersicht darauf hingewiesen, daß zahlreiche Arbeiten bereits im vorangegangenen Abschnitt über Antagonismus und Synergismus unter Lebensmittelmikroorganismen zitiert worden sind. Es sollen an dieser Stelle vor allem die Arbeiten angeführt werden, die sich mit den Eigenschaften der antibiotischen Substanzen befassen.

a') Antibiotische Substanzen bei Mikrokokken

LÖDE (1902) führte die Wirkung eines Mikrokokken-Stammes auf das Wachstum zahlreicher grampositiver und gramnegativer Bakterien auf eine isolierbare aktive Substanz zurück, doch verliefen damit durchgeführte Tierversuche negativ. DULISCOUET (1935) isolierte aus Agar-Kulturen von einem *Staph. albus*-Stamm eine als "Staphylin" bezeichnete antibiotische Substanz. Die Extraktion und Konzentration einer solchen Wirksubstanz von Staphylokokken beschrieb SU (1948). Sie ist hitzelabil, dialysierbar, in Alkohol und Chloroform löslich, in Wasser nahezu und in Äther völlig unlöslich. Chemisch enthielt sie Stickstoff und Schwefel, jedoch keine Halogene. Eine Inaktivierung konnte durch Pepsin, Trypsin und Cystein nicht erreicht werden. Auch bei LOEB et al. (1950), HEATLEY & DOERY (1952), HALBERT et al. (1953) und BARROW (1963) finden sich Hinweise auf antibiotische Metaboliten von Mikrokokken, die als "Micrococccin" oder "Staphylococccin" bezeichnet wurden. Eine Zusammenfassung von Arbeiten zu diesem Thema gibt KLEIN (1970).

Neben einer artspezifischen Hemmwirkung innerhalb der Familie der Mikrokokken wurden wiederholt auch

Beeinflussungen anderer Keimarten, vor allem von *Corynebact. diphtheriae* und anderen Corynebakterien-Arten, aber auch von Streptokokken-, Enterokokken-, Pneumokokken-, *Bacillus*- und Clostridien-Species beschrieben. Dagegen konnte eine Beeinträchtigung gramnegativer Keime nicht erfaßt werden (BARROW, 1963; GAGLIANO & HINS DILL, 1970). Neben einer, allerdings wesentlich geringeren Hemmung gramnegativer Keime fanden HSU & WISEMAN (1967) auch eine größere Wirksamkeit solcher Substanzen, die von koagulase-negativen Staphylokokken gebildet worden waren. Den Wirkungsmechanismus erklärten sie durch

- a) lytische Prozesse, vor allem gegenüber lebenden und toten Mikrokokken und
- b) sogenannte "inhibitory agents", die besonders grampositive Species beeinflussten.

MOORE (1970) wies bei 14 von 2535 überprüften Staphylokokken-Stämmen hemmend und lytisch wirkende, von ihm als "Aureocine" bezeichnete Stoffe nach.

Die Gewinnung antibiotischer Substanzen von Mikrokokken erwies sich bislang als schwierig, sodaß über Art und Eigenschaften dieser Stoffe noch wenig bekannt ist. GARDNER (1949) und später BARROW (1963) kamen durch Fällung mit Trichloressigsäure aus flüssigen Kulturen zu einer proteinähnlichen Substanz, die sie jedoch nicht rein darstellen konnten. Sie war hitzestabil im sauren und neutralen Milieu, dagegen durch Erhitzung bei pH-Werten über 7.0, sowie durch Trypsin schnell inaktivierbar.

Aus einer NaCl-Aufschwemmung von Plattenkulturen isolierten HSU & WISEMAN (1967) eine niedermolekulare, nicht-proteinähnliche Substanz, die auch bei pH-Werten über 7.0 hitzestabil blieb und durch Trypsin und Pepsin innerhalb von 6 Stunden nur mäßig inaktiviert wurde.

LACHOWICZ und LACHOWICZ et al. (verschiedene Arbeiten 1962 - 1968) untersuchten ein von festen Nährböden gewonnenes thermostabiles, bei pH-Werten zwischen 3.5 und 8.0 kaum verändertes, trypsin- und pepsinresistentes Bacteriocin eines apathogenen Staphylokokken-Stammes, das sie als eine saure, hochmolekulare Substanz von Kohlenhydrat-

charakter beschrieben.

Durch Aufbrechen der Zellen im Zellfraktionator erhielten GAGLIANO & HINS DILL (1970) einen überwiegend aus Proteinen (46 %) und Lipiden (24.3 %) zusammengesetzten Stoff, der durch Erhitzung (30 Min. bei 100 °C) und durch Trypsin und Pepsin innerhalb von 2 Stunden nur unwesentlich beeinflußt werden konnte.

HOFFMANN & STREITFELD (1965) konnten schließlich noch beobachten, daß auch Staphylokokken-Hämolysin auf einige Staphylokokken-, Gaffkya- und Laktobazillen-Species wachstumshemmend wirkten.

b') Antibiotische Substanzen bei Enterobacteriaceae

GRATIA (1925) beschrieb erstmals einen Antagonismus zwischen zwei E. coli-Stämmen und führte diesen auf eine thermostabile, chloroform-resistente antibiotische Substanz zurück, die er "Colicin" nannte.

GARDNER (1950) bezeichnete die von ihm isolierten "colicinen" Stoffe als scheinbare Proteine, die besonders in den oberflächlichen Schichten stehender Bouillon-Kulturen gebildet werden und gegenüber Pepsin, Trypsin und Papain empfindlich sind. Er klassifizierte sie nach folgenden Kriterien:

- a) Art der Hemmzone auf festen Medien
- b) Diffusionsgeschwindigkeit in Agar
- c) Geschwindigkeit der Zersetzbarkeit durch bakterielle Proteolyse
- d) Verhalten gegenüber einer Reihe künstlich gezüchteter resistenter Mutanten.

Gleichzeitig wies er auf die hohe Artspezifität dieser Stoffe hin und führte an, daß es aus diesem Grund möglich sei, bestehende Antagonismen wegen des fehlenden Testkeimes nicht aufdecken zu können. Es kann diese Artspezifität jedoch ebenso ein Anzeichen dafür sein, daß es sich um ein "Colicin" im Sinne der Definition von SMARDA (BRANDIS &

SMARDA, 1971) handelte. Danach sind Colicine 'spezifische antibiotische Substanzen, die im Laufe des Wachstums bestimmter Kulturen von Enterobacteriaceae gebildet werden, deren wirksamer Bestandteil Eiweißcharakter hat, die ein charakteristisches, auf andere Stämme der gleichen Art oder eventuell nahe verwandter Arten begrenztes Stammwirkungsspektrum haben, immer aber auf *E. coli* wirksam sind und zu ihrer Wirkung einen spezifischen Rezeptor in der zytoplasmatischen Membran der sensiblen Zelle erfordern'.

Neben den typischen Colicinen von *E. coli*-Stämmen gibt es eine Reihe von Bacteriocinen anderer Enterobacteriaceae-Species, die im wesentlichen als Varianten der Colicine anzusehen sind (HAMON & PÉRON, 1964 a, b, c).

Die wesentlichen Eigenschaften der Colicine sind nach FREDERICQ (1948 a, b, c) folgende:

1. Vorhandensein eines individuell charakteristischen Wirkungsspektrums
2. Eine spezifische Adsorption an die Oberfläche der Bakterienzelle als Grundvoraussetzung einer Hemmwirkung
3. Verhältnismäßig langsame Diffusion im Agar
4. Thermolabilität (die Mehrzahl wird bei 60 °C innerhalb von 30 Minuten inaktiviert)
5. Chloroformresistenz (nicht in allen Fällen)
6. Sensibilität gegenüber proteolytischen Enzymen, vor allem Trypsin
7. Bildung von Antikörpern durch Immunisierung von Tieren (BORDET, 1947).

Zum Wirkungsmechanismus der Colicine erstellte NOMURA (1964) folgende Hypothese: 'durch die Anlagerung einer letalen Colicin-Einheit (d.i. die minimale Colicinmenge, die ausreicht, um eine Zelle des sensiblen Stammes abzutöten; JACOB et al., 1952) an eine der Rezeptorstellen an der Zelloberfläche wird dort eine bestimmte, noch nicht näher bekannte reversible Veränderung hervorgerufen. Durch einen Übertragungsmechanismus, wahrscheinlich über die zytoplasmatische Membran, kommt es zu biochemischen Verände-

rungen innerhalb der Zelle und unter Umständen auch zu deren Absterben.' Colicine wirken sowohl bakteriostatisch als auch bakterizid, nicht jedoch bakteriolytisch. Lytische Prozesse treten nach SMARDA (1962, 1963) erst postmortal ein. Dadurch unterscheiden sich Colicine von vielen Bacteriocinen grampositiver Species, deren Hemmwirkungen auf eine Lysis zurückzuführen sind.

Demgegenüber konnten BOWLING & WYNNE (1951) und WYNNE & NORMAN (1953) antibiotische Substanzen anderer als coliciner Natur isolieren, die gegenüber einer Reihe grampositiver Bakterien (Bazillen, Staphylokokken) Hemmwirkungen aufwiesen. Sie waren hitzestabil, nicht filtrierbar und dialysierbar und durch Chloroform inaktivierbar. TROL-
LER & FRAZIER (1963 b) fanden eine dialysierbare und filtrierbare antibiotische Wirksubstanz eines E. coli-Stammes, die besonders gegenüber Mikrokokken deutlich antagonistisch wirkte. DiGIACINTO & FRAZIER (1966) konnten diese Ergebnisse bestätigen. Weitere Angaben über antibiotische Stoffe von Enterobacteriaceae sind bei HEATLEY & FLOREY (1946), HALBERT (1948), HALBERT & MAGNUSON (1948), BLACKFORD et al. (1951), COOK et al. (1953) zu finden.

c') Antibiotische Substanzen bei Streptokokken

Die Bildung antibiotischer Substanzen durch Milchstreptokokken, die gegenüber Staphylokokken, Diphtherie-"Bazillen" und anderen Keimarten hemmend wirkten, beschrieben HIRSCH & WHEATER (1951). Ähnliche Hinweise gaben HOYLE & NICHOLS (1948), RITTER (1950, 1952), BARIBO & FOSTER (1951) und MARTH & HUSSONG (1963).

GRECZ (1954) beschrieb eine dialysierbare, säure- und hitzestabile, in Wasser, Äthanol und Butanol lösliche Substanz von Brevibact. linens, die zu Wachstumshemmungen bei zahlreichen grampositiven und gramnegativen Bakterien, sowie bei Hefen und Schimmeln führte.

Eine Hemmsubstanz namens "Lactobacillin" untersuchten HIRSCH et al. (1952) und WHEATER et al. (1952).

Durch *L. acidophilus* wurde das von VINCENT et al. (1959) als "Lactocidin" bezeichnete Agens gebildet.

Als die bekannteste antibiotische Substanz in dieser Reihe gilt das "Nisin", das von einigen Autoren isoliert werden konnte. MATTICK & HIRSCH (1947) wiesen eine Hemmwirkung gegenüber Corynebakterien und anderen Streptokokken nach. HIRSCH (1951) beschrieb Nisin als stabil in saurem Milieu, jedoch inaktivierbar durch Erhitzen bei pH-Werten zwischen 6.0 und 9.0. KAFEL & AYRES (1969) fanden eine, dem Enterokokken-Stoffwechsel entstammende und dem Nisin ähnliche Substanz. Weitere Angaben über Eigenschaften, Nachweismethoden und Fütterungsversuche mit Nisin wurden in Sonderdrucken der Res. Div. Aplin & Barrett Ltd., Somerset zusammengestellt (N.N., ohne Jahresangaben).

Eine mehr oder weniger deutliche Bildung bacteriociner Substanzen, der sogenannten "Enterocine", stellten KJEMS (1955), BROCK et al. (1963) und BRANDIS et al. (1965) bei über der Hälfte der untersuchten Stämme fest. Das Wirkungsspektrum dieser Stoffe war, außer auf Streptokokken, auf einige grampositive Species beschränkt. Eine Einteilung der verschiedenen Enterocin-Typen nach ihrem Verhalten gegenüber Chloroform, Proteinasen und Erhitzung versuchten BROCK et al. (1963).

Die Wirkungsweise der Enterocine ist zumeist lytischer Art. So kamen BROCK & DAVIE (1963) zu der Feststellung, daß das Enterocin von *Sc. faecalis* var. *zymogenes* mit dem entsprechenden Hämolysin identisch sei. Diese Substanz wurde von ihnen als chloroform-empfindlich, durch Lecithin sowie Bebrütung bei 37 °C für 15 Minuten inaktivierbar beschrieben. Gleichfalls lytisch wirkende Substanzen bei einigen *Sc. faecalis*- und *Sc. faecalis* var. *liquefaciens*-Stämmen fanden BRANDIS & BRANDIS (1966).

Ein nicht lytisches, hitzelabiles und durch kristallines Trypsin inaktivierbares Enterocin isolierten BRANDIS & BRANDIS (1962) bei einem *Sc. faecium*-Stamm. Die Wirkung wurde von den Autoren als "Desinfektionsmittel-Effekt" bezeichnet, da ein vollständiges Systieren der Glykolyse nach kurzer Zeit eintrat.

SHERWOOD et al. (1949) beschrieben schließlich noch eine hemmende Substanz bei einigen anderen Streptokokken als denen der serologischen Gruppe D und nannten sie "Streptostasin".

d') Antibiotische Substanzen bei der
Aeromonas-Pseudomonas-Gruppe

JACOB et al. (1953) und JACOB (1954) beschrieben antibiotische Substanzen bei Pseudomonas-Arten, die den Colicinen ähnlich sind und die sie "Pyocine" nannten. Das Wirkungsspektrum dieser Stoffe ist fast ausschließlich auf die Gruppe der Pseudomonaden beschränkt, wobei ein hoher Prozentsatz sowohl Pyocin-bildender als auch Pyocin-empfindlicher Stämme ermittelt wurde (HAMON, 1956; HAMON et al., 1961; HAMAMURA, 1962).

Pyocine sind relativ hitzestabil bei pH-Werten um 7.0 und gegenüber Proteasen unempfindlich.

Die Bildung entsprechender "Fluocine" durch *Ps. fluorescens* wiesen HAMON et al. (1961) nach.

e') Antibiotische Substanzen bei Bacillaceae

Die Bildung von "Subtilin", einer antibiotischen Substanz von *Bac. subtilis*, wurde von einigen Autoren erwähnt (JANSEN & HIRSCHMANN, 1944; SALLE & JANN, 1945; OLIVIER, 1946; DIMICK et al., 1947). Subtilin wirkte bakteriostatisch und war in salzfreiem Wasser bei pH-Werten unter 6.0, sowie in Äthanol und Methanol gut löslich. Eine Inaktivierung war durch Alkali sofort, durch Pepsin und Trypsin nur langsam möglich. Als besonders günstiges Nährmedium führten HUMFELDT & FEUSTEL (1943) Spargelbrühe an.

Bei einer durch *Bac. cereus* gebildeten Substanz vermuteten TROLLER & FRAZIER (1963 b) ein niedermolekulares Di- oder Tripeptid.

Hinsichtlich bacteriocin-ähnlicher Substanzen untersuchten verschiedene Autoren die von *Bac. megaterium* produzierten "Megacine", deren Wirkungsspektrum fast ausschließlich *Bacillus*-Arten umfaßt. Die Wirkungsweise be-

ruht auf einer Beeinflussung der zytoplasmatischen Membran oder der DNS-Synthese (FREDERICQ et al., 1946; GRATIA & THIBAUT, 1947; IVÁNOVICS & NAGY, 1958; HOLLAND, 1961, 1962, 1963, 1965, 1966, 1967).

Der bislang am genauesten untersuchte Megacintyp "A" ist thermolabil, pepsin-, trypsin- und chymotrypsinresistent.

Die Bildung von Bacteriocinen bei *Cl. perfringens* ist nicht sehr häufig, jedoch ist eine entsprechende Sensibilität bei einer Vielzahl der Stämme zu beobachten. Die gebildeten "Clostocine" sind teils thermostabil, teils thermolabil, gegen Trypsin mehr oder weniger empfindlich und im pH-Bereich von 4.0 bis 9.0 stabil (SASARMAN & ANTOHI, 1963, 1969; BETZ & ANDERSON, 1964; TUBYLEWICZ, 1966 a, 1966 b; HONGO et al., 1968; MAHONY & BUTLER, 1971).

c) Abhängigkeit mikrobiocoenotischer Prozesse
vom Keimzahlverhältnis

In die beiden vorausgegangenen Abschnitte nicht zwingend einzuordnen ist die Abhängigkeit solcher Wechselwirkungen vom Verhältnis der Ausgangsinocula in einem Biotope. CONN & BRIGHT (1919) wiesen in ihren Untersuchungen die Bedeutung dieses Faktors für Art und Umfang antagonistischer Aktivitäten nach. Weitere Angaben in diesem Sinne finden sich bei LEWIS (1929), ETINGER-TULCZYNSKA (1932, 1934), NEUFELD & KUHN (1935), sowie in neuerer Zeit bei VANDERZANT (1968).

Auch TROLLER & FRAZIER (1963 a), DiGIACINTO & FRAZIER (1966) und KAO & FRAZIER (1966) stellten fest, daß antagonistisch wirksame Begleitkeime Staphylokokken auch dann noch beeinflussen können, wenn letztere in einer 10-fach höheren Konzentration vorliegen.

5. Bisher beschriebene Nachweisverfahren für die Untersuchung mikrobiocoenotischer Prozesse

Mikrobiocoenotische Vorgänge können sowohl auf dem vom Nährstoffangebot abhängigen kompetitiven Wachstum, als auch auf der Bildung antagonistischer oder synergistischer Stoffwechselprodukte beruhen. Ein Zusammenwirken beider Komponenten ist gleichfalls möglich.

a) Methoden für die Untersuchung der Bildung und Wirkung antibiotischer Substanzen

Für die Prüfung auf antibiotische Substanzen sind besondere Verfahren notwendig, um die Einflüsse anderer Faktoren auszuschalten. Zurückgehend auf FREDERICQ (1948 c) behandelten zahlreiche Autoren die angewachsenen Bakterien mit Chloroformdampf, um dadurch die Vermehrung der Keime auszuschließen (BOWLING & WYNNE, 1951; WYNNE & NORMAN, 1953; ABBOTT & SHANNON, 1958; HSU & WISEMAN, 1967). Den gleichen Effekt versuchten BOWLING & WYNNE auch durch Hitzesterilisierung zu erzielen.

Für den Nachweis solcher Substanzen, die durch Cellophan diffundieren können, ist die bei PARKER & SIMMONS (1959) beschriebene Methode anwendbar. Dabei werden die Effektor-Stämme auf eine dünne Cellophanmembran aufgetragen, mit der zusammen sie nach erfolgter Kultivierung und nach Diffusion der antibiotischen Stoffe in den darunterliegenden Nährboden von diesem abgenommen werden können. Die Reagentenstämme können dannach entweder aufgetropft, ausgestrichen oder ausgespatelt werden. Für nicht cellophan-diffusionsfähige Substanzen kann nach GRATIA (1946) und PARKER & SIMMONS (1959) eine analoge Filtrierpapier-Methode angewandt werden.

GRATIA et al. (1950) modifizierten die Technik der doppelten Agarschicht nach GRATIA (1936). Dabei wird die mit Agar versetzte Effektor-Suspension auf eine Agarplatte ausgegossen und nach ihrem Erstarren wiederum mit sterilem Agar überschichtet. Um ein Anwachsen der Effektorkeime auf dieser dritten Schicht zu verhindern, er-

folgt eine Behandlung mit Chloroform. Bei der nachfolgenden Inkubation wachsen zwischen der ersten und dritten Agarschicht die Effektorkolonien. Auf die oberste Schicht wird dann die zu prüfende Keimsuspension aufgebracht und bei 37 °C erneut bebrütet. Eine zeitlich weniger aufwendige und auch für obligat aerob wachsende Keime verwendbare Methode führten KÉKESY & PIGUET (1970) und LOTT (1971) durch. Dabei wird nach erfolgter Beimpfung und Bebrütung die Nährbodenschicht mit der Oberfläche nach unten in den Deckel der Petrischale gestürzt und die Rückseite mit den zu untersuchenden Stämmen beimpft.

Schließlich sei noch auf die Verwendung von Kulturfiltraten (BOWLING & WYNNE, 1951; RITTER, 1950, 1952, 1956), bzw. von Dialyseschläuchen (BOWLING & WYNNE, 1951; TROLLER & FRAZIER, 1963 a, b) hingewiesen, wobei wiederum die Filtrierbarkeit und Dialysierbarkeit der Substanzen vorauszusetzen sind.

b) Methoden der Beimpfung fester Nährböden

Zur Beimpfung der Prüfmedien wurden die Keimsuspensionen sowohl ausgestrichen als auch ausgetropft (ROSEBURY et al., 1954; PARKER & SIMMONS, 1959; OBERHOFER & FRAZIER, 1961; GRAVES & FRAZIER, 1963; HAMON, 1965), oder nach Vermischung mit verflüssigten sterilen Nährbodenlösungen ausgegossen. Solche als "staled agar plates" bezeichneten Platten fanden bei LEWIS (1929), WYNNE (1947), BLACKFORD et al. (1951), BOWLING & WYNNE (1951), WYNNE & NORMAN (1953), OBERHOFER & FRAZIER (1961), HENTGES & FRETER (1962) und FRETER (1962) Verwendung.

Für die Schnelluntersuchung einer größeren Anzahl von Stämmen erwiesen sich folgende Methoden als besonders geeignet:

aa) Agar-Querstrich-Test (ZÄHNER, 1965)

Diese, auch als "cross streak" oder "multiple streak" bekannte Methode wurde auch von JENNINGS & SHARP (1947), GARDNER (1948) und PARKER & SIMMONS (1959) beschrieben.

ben. Dabei werden quer zu einem diametral ausgestrichenen Effektorstamm die zu untersuchenden Reagenten aufgetragen.

bb) Plattendiffusions-Test (ZAHNER, 1965)

Hierbei wird auf eine Grundschrift mit möglichst gleichmäßiger Keimverteilung (am besten erreichbar durch Suspension in verflüssigten Nährböden, vgl. auch "staled agar plates") die zu untersuchende Prüflösung aufgegeben und zwar

- a') im Tropfverfahren ("drop-plating")
- b') durch Pipettieren in ausgestanzte Löcher (BARROW, 1963)
- c') durch Auflegen von mit Prüflösungen getränkten Filterpapierscheibchen oder -streifen (LEWIS, 1929; GRATIA, 1946; PARKER & SIMMONS, 1959)
- d') durch Beimpfen mit einer Spritze (FREDERICQ, 1948 c)

cc) Methode der überlappenden Tropfen

Diese sogenannte "overlapping drop method" wurde zuerst von ROSEBURY et al. (1954) angewandt und später noch verschiedentlich erwähnt (VANDERZANT, 1968). Dabei werden mit einer Öse zunächst Tropfen einer Effektor-Suspension auf eine Platte aufgebracht und nach dem Antrocknen von den zu prüfenden Bouillon-Kulturen jeweils ein Tropfen so aufgesetzt, daß er etwa $1/3$ des ersten Tropfens überlappt. Eine im Prinzip ähnliche Methode beschrieb HAMON (1965) als "Kontakt-Methode".

Der Nachteil all dieser Methoden besteht darin, daß neben schnellen qualitativen Befunden quantitative Aussagen nur in sehr begrenztem Maße möglich sind. Um solche Aussagen zu erhalten, müßten Keimsuspensionen im Röhren-Reihentest quantitativ analysiert werden.

c) Spezielle Untersuchungsmethoden auf festen Nährböden

Hier finden im wesentlichen zwei verschiedene Prinzipie Erwähnung:

aa) Simultane oder direkte Prüfung

Diese Methode des "simultaneous antagonism" geht davon aus, daß sowohl Effektor-, als auch Reagenten-Stämme simultan, d.h. innerhalb kurzer Zeit aufgetragen werden, wobei Trockenzeiten für den primär aufgetragenen Keim bis zu 30 Minuten angegeben wurden (GRATIA, 1925; LEWIS, 1929; GRATIA, 1946; HALBERT, 1948; BLACKFORD et al., 1951; BOWLING & WYNNE, 1951; PARKER & SIMMONS, 1959; OBERHOFER & FRAZIER, 1961).

PARKER & SIMMONS wiesen darauf hin, daß diese Methode nur dann von Wert ist, wenn entweder eine sehr wirksame Hemmsubstanz gebildet wird oder wenn diese Bildung sehr rasch vonstatten geht, da die Beeinflussung der Hemmstoffbildung durch eine eventuell schneller wachsende Begleitflora nicht ausgeschlossen werden kann.

bb) Zeitlich getrennte Prüfung

Unter diesem, auch als "deferred antagonism" bezeichneten Test versteht man eine zweiphasige Beimpfung, d.h. der primär aufgetragene Effektor wird bebrütet und die Aussaat der Reagentenstämme erfolgt erst nach 24 - 48 Stunden (GRATIA, 1946; JENNINGS & SHARP, 1947; GARDNER, 1948; LOEB et al., 1950; HSU & WISEMAN, 1967). Bei dieser Methode können auch sehr schwach ausgeprägte Hemmwirkungen noch erfaßt werden.

d) Spezielle Untersuchungsmethoden in flüssigen Nährmedien

Die Anwendung flüssiger Medien, bzw. die Verwendung von Kulturfiltraten und -dialysaten wurde schon weiter oben erwähnt. Es soll hier nur noch auf die sogenannte "continuous flow method" eingegangen werden, wie sie von einigen Autoren angewandt wurde (ZUBRZYCKI & SPAULDING, 1957,

1958; ZUBRZYCKI, 1958; HENTGES & FRETER, 1962; FRETER, 1962). Sie beruht auf einem ständigen Zufluß frischen Mediums und damit auf einem laufenden Auswaschen gebildeter Stoffwechselprodukte, um so die im Darm herrschenden Verhältnisse zu imitieren und eine möglichst gute Wiedergabe des "in vivo"-Zustandes zu erreichen. HENTGES & FRETER und FRETER konnten außerdem nachweisen, daß ein ähnlicher Effekt auch durch möglichst häufiges Überimpfen erzielt werden kann.

e) Methoden zur Untersuchung kompetitiver Wirkungsmechanismen

Derartige Angaben liegen in der Literatur bislang nicht vor. Hinzuweisen ist auf die im Abschnitt "Faktoren und Wirkungsmechanismen" zitierten Arbeiten von HIRSCH (1951), HENTGES & FRETER (1962) und FRETER (1962), die durch Zufuhr frischer Nährstoffe eine auf kompetitive Einflüsse zurückzuführende Wachstumsunterdrückung rückgängig machen konnten. Ähnliche Untersuchungen finden sich auch bei TROLLER & FRAZIER (1963 b).

f) Angaben über eine besondere Nährmedium-Beschaffenheit

Als besonders günstig für die Bildung von Subtilin bezeichneten HUMFELDT & FEUSTEL (1943) und DIMICK et al. (1947) Spargelbrühe.

MCCOY & FABER (1966) benutzten für ihre Vergleichsuntersuchungen mit Lebensmittelmikroorganismen Fleischbrühen von rohem und gekochtem Rind- und Schweinefleisch, sowie von Dosenschinken.

Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

1. Prüfstämme und deren Charakterisierung

Zur Untersuchung gelangten insgesamt 34 Stämme aus der Sammlung des Institutes für Lebensmittelhygiene. Dabei handelte es sich um 4 Staphylokokken-Stämme (drei *Staph. aureus*, 1 *Staph. ontario*), 15 Enterobacteriaceae-Stämme (je 5 Species der Coli-Aerogenes-Gruppe, Proteus-Providencia-Gruppe und Salmonella-Arizona-Gruppe), 5 Enterokokken-Stämme, 4 Bazillen-Stämme, 3 Clostridien-Stämme, 2 Pseudomonas- und einen Aeromonas-Stamm.

Die weitere Herkunft der Stämme wird - soweit sie bekannt ist - in den einzelnen Abschnitten angegeben. Die in Klammern angeführten Bezeichnungen sind die hausüblichen Signaturen und werden im Verlauf der Arbeit in Tabellen und Abbildungen verwendet

a) Staphylokokken-Stämme

Die überprüften und für die Differenzierung der Stämme bedeutsamen Charakteristika sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

b) Enterobacteriaceae-Stämme

Nach EWING (1963, zit. nach KNOTHE et al., 1969) wurden die geprüften Enterobacteriaceae wie folgt eingeteilt und bezeichnet:

Escherichieae

Escherichia coli

Klebsielleae

Klebsiella aerogenes

Enterobacter cloacae

Hafnia (Zuordnung nach EWING, 1966)

Tabelle 1

Überprüfung der verwendeten Staphylokokken-Stämme

	Staph. aureus	Staph. aureus	Staph. aureus	Staph. ontario
Hauseigene Signatur	PS 71	PS 83 A	PS 42 D	ohne
Herkunft	NCTC 9315	1)	NCTC 1003	
Koagulase	+	+	+	-
DNase-Reaktion	+	+	+	+
Hämolyse 2)	α	-	-	β
Eigelb-Reaktion				
Lecithinase	+	+	+	$\pm$
Lipase	-	-	-	-
Lysisgruppe 3)	II	III	IV	

1) = von BLAIR & CARR (1960) isolierter Stamm

2) = die Hämolyse wurde auf Hammelblutplatten geprüft, wobei:
 α -Hämolyse = breite vollkommene Lysis mit unscharfem Rand
 β -Hämolyse = breite teilweise Lysis mit scharfem Rand

3) = Für die Bestimmung der Lysisgruppe sei Frl. Dr. Kusch, Inst. für Lebensmittelhygiene, gedankt.

Proteae

Proteus vulgaris
Proteus mirabilis
Proteus rettgeri
Proteus morganii
Providencia

Salmonelleae

Arizona
Salmonella heidelberg
Salmonella dublin
Salmonella enteritidis
Salmonella typhimurium
Citrobacter

Der Prot. rettgeri- und der S. dublin-Stamm wurden im Verlauf der Versuche kontaminiert und für die weiteren Versuche nicht mehr verwendet.

Die überprüften und für die Differenzierung bedeutsamen Charakteristika der Stämme sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Darin ist auch die Herkunft angegeben:

Pettenkofer-Institut Berlin (= PI)
Robert-Koch-Institut Berlin (= RKI)
Inst. für Lebensmittelhygiene (= IfL)

Weiterhin wurden in der Tabelle für verschiedene Nachweisreaktionen folgende Abkürzungen verwendet:

Lysindecarboxylase-Test (= LDC)
Acetylmethylcarbinol-Bildung
("VOGES-PROSKAUER-Reaktion") (= VPR)
Phenylalanindeaminase-Test (= PD)
Eijckmann-Test = Gas aus Laktose, sowie Indol-
bildung bei 44 °C

Die Untersuchung des Hafnia-Stammes erfolgte sowohl bei 37 °C wie auch bei Raumtemperatur (20 - 22 °C); die mit x) gekennzeichneten Reaktionen waren bei 20 - 22 °C positiv.

Tabelle 2

Überprüfung der Enterobacteriaceae-Stämme

	haus eigene Signatur	Laktose	LDC	Indol	VPR	Citrat	Urease	Beweg- lichkeit	H ₂ S	PD	Gelatine- Verfl.	Dulcit	Malonat	Eijckmann- Test	Herkunft
<i>E. coli</i>	E 2	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	RKI
<i>Citrobacter</i>	E 5 b	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	PI
<i>Hafnia</i>	E 7 b	-	+	-	(+) ^x	+	-	- ^x	-	-	-	-	-	-	PI
<i>Klebs. aerogenes</i>	E 10 b	+	+	-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	PI
<i>Enterobact. cloacae</i>	E 13 b	+	-	-	+	+	+	+	-	-	(+)	-	-	-	PI
<i>Prot. vulgaris</i>	E 18 b	-	-	+	(-)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	PI
<i>Prot. mirabilis</i>	E 19 b	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	PI
<i>Prot. rettgeri</i>	E 20 b	-	-	+	-	(+)	+	+	-	+	-	-	-	-	PI
<i>Prot. morganii</i>	E 21 b	-	-	+	-	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-	PI
<i>Providencia</i>	E 22 b	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	IfL
<i>Arizona</i>	E 15 b	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	PI
<i>S. heidelberg</i>	E 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PI
<i>S. dublin</i>	E 32	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	PI
<i>S. enteritidis</i>	E 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	IfL
<i>S. typhimurium</i>	E 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PI

(Erklärungen vgl. Seite 43)

c) Enterokokken-Stämme

Die differentialdiagnostisch wichtigen und überprüften Reaktionen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Alle Stämme wurden ursprünglich vom Institut für Milchhygiene der Bundesanstalt für Milchforschung in Kiel zur Verfügung gestellt.

d) Stämme der Aeromonas-Pseudomonas-Gruppe

Die drei überprüften Stämme wurden vom Pettenkofer-Institut übernommen; die charakteristischen und überprüften Reaktionen sind in Tabelle 4 angegeben.

e) Bacillaceae-Stämme

Die vier für die Versuche verwendeten Bazillen-Stämme und die durchgeführten Identifizierungsnachweise sind in Tabelle 5 zusammengestellt. *Bac. megaterium* wurde von Dr. Kundrat (Inst. für tierärztliche Nahrungsmittelkunde, München), *Bac. cereus* von Dr. Bendler (Kassel) anlässlich einer Lebensmittelvergiftung isoliert; die beiden anderen Stämme sind ATCC-Species.

Zwei der drei untersuchten Clostridien-Stämme wurden von Dr. Baumgart (Kiel) isoliert, während der dritte am Inst. für Lebensmittelhygiene, Berlin, isoliert und als *Cl. perfringens*-ähnlich klassifiziert worden war. Im einzelnen zeigten diese Stämme die in Tabelle 6 angeführten Reaktionen.

2. Versuchsmethodik

Die Untersuchungen auf biocoenotische Prozesse wurden in Anlehnung an die in der Literatur beschriebenen Methoden durchgeführt. Anhand des "Agar-Querstrich-Testes" sollten antibiotisch wirksame Substanzen zunächst qualitativ nachgewiesen werden. Ziel einer zweiten Versuchsreihe war es, mit Hilfe eines vereinfachten Verfahrens kompetitives Wachstum quantitativ zu ermitteln. Dazu wurden frische Mischsuspensionen auf festen Medien kultiviert.

Tabelle 3

Überprüfung der Enterokokken-Stämme

	CO 1)	TTC 2)	VPR 3)	Sherman - Kriterien	Hämolyse 5)	Wachstum bei 45 °C	Wachstum bei 50 °C	0.04 % Tellurit	Mannit	Wachstum auf ZATK-Medium 4) nach REUTER, 1968
Sc. faecalis Nr. 11649 (Sc 4)	-	+	+	+	α	+	-	+		Kolonie flach, kräftig rot gefärbt
Sc. faecalis var. zymogenes Nr. 11551 (Sc 6)	-	+	+	+	β	+	-	+		Kolonie erhaben, rot mit schmalem grauen Rand
Sc. faecalis var. liquefaciens Nr. 11670 (Sc 7)	-	+	+	+	(*)	+	-	+		Kolonie erhaben, kräftig rot gefärbt
Sc. faecium Nr. 11652 (Sc 15)	-	-	+	+	α	+	+	-	+	Kolonie rosafarben mit kleinem roten Zentrum
Sc. faecium var. durans Nr. 11639 (Sc 12)	-	-	+	+	α	+	-	-	-	Kolonien flach, rosafarben mit dunkelrotem Zentrum

1) = Cytochromoxydase-Test (Benzidin-Test)

2) = Triphenyl-Tetrazolium-Chlorid-Reduktion

3) = "VOGES-PROSKAUER-Reaktion"

4) = Zitrat-Azid-Tween-Karbonat-Agar

5) = Hämolyse-Formen: α = schmale Zone schwacher Hämolyse mit unscharfem Rand

β = breite Zone totaler Hämolyse mit unscharfem Rand

Tabelle 4

Überprüfung der *Aeromonas*-*Pseudomonas*-Stämme

	Ps. <i>aeruginosa</i>	Ps. <i>fluorescens</i>	<i>Aeromonas</i> <i>liquefaciens</i>
Hauseigene Signatur	E 26 b	E 27 b	E 35
Herkunft	PI 669/70	PI 665/70	PI 1433/70
Wachstum auf Agar	++	++	++
CO-Test 1)	+	+	+
Glukose-Abbau, anaerob	-	-	+
Gas aus Glukose	-	-	+
Gelatine-Verfl. bei 41°C	-	-	+
Pigmentbildung auf Agar	blaugrün, metallisch glänzend	gelbgrün	
Wachstum auf GSP-Agar 2)	rotblaue Kolonien, Nährboden violett, Metallglanz	Kolonien und Nähr- boden rosaviolett	gelblich, muköses Wachstum

1) = Cytochromoxydase-Test (CO-Test) nach KOVACS in der Modifikation nach GABY & HADLEY, 1957

2) = Glutaminat-Stärke-Penicillin-Agar mit Phenolrot als Indikator, pH 7.2

Tabelle 5

Überprüfung der Bazillen-Stämme

	Bac. subtilis	Bac. megaterium	Bac. coagulans	Bac. cereus
Hauseigene Signatur	B 10	B 13	B 16	B 22
Herkunft	ATCC 6051	Kundrat	ATCC 7050	Bendler
Beweglichkeit	-	-	-	+
Gelatine-Verfl.	(+)	(+)	-	+
Nitratase	+	<u>+</u>	<u>+</u>	+
NH ₃ aus Arginin	-	-	-	-
Anaerobes Wachstum	+	+	<u>+</u>	+
VPR 1)	+	(+)	+	+
Wachstum bei 6.5 % NaCl	+	+	+	+
Wachstum bei 10 % NaCl	(+)	-	+	-
Lackmus-Milch 2)	R,P	P	R,P	P
Hämolyse 3)	(α)	(α)	β	β
Eigelb-Reaktion				
Lecithinase	+	-	+	+
Lipase	-	-	-	+
Glukose-Abbau, anaerob	+	+	+	+
Wachstum 45 °C	+	-	+	+
Wachstum 56 °C	+	-	+	<u>+</u>

1) = VOGES-PROSKAUER-Reaktion

2) = Reaktionen in Lackmus-Milch: R = Reduktion
P = Peptonisierung

3) = Hämolyse-Formen: α = schmale Zone schwacher Hämolyse mit unscharfem Rand

β = breite Zone totaler Hämolyse mit unscharfem Rand

Tabelle 6

Überprüfung der Clostridien-Stämme

	Clostridium- Isolat aus Wurst	Cl. perfringens	Cl. perfringens
Hauseigene Signatur	W 4	P 1	P 13
Herkunft	IfL	Baumgart	Baumgart
Beweglichkeit	+	(+)	-
Gelatine-Verfl.	+	+	+
Nitratase	-	(+)	+
Gasbildung, anaerob	+	(+)	++
Indol-Bildung	-	-	-
H ₂ S-Bildung	(+)	+	+
Laktose	(+)	+	+
Eigelb-Reaktion			
Lecithinase	++	++	+
Lipase	-	-	-
Hämolyse	-	(+)	++
Lackmus-Milch ¹⁾	P	P	P

1) = Reaktionen in Lackmus-Milch nach 24^h

P = Peptonisierung

Diese als "quantitativer Plattentest" bezeichnete Versuchsreihe wurde sowohl zur Untersuchung des "simultanen" als auch des "verzögerten" Antagonismus herangezogen. In einer dritten Versuchsreihe schließlich wurde das Verhalten von Mikroorganismen in Mischsuspensionen bei Lagerung über bestimmte Zeiträume und bei verschiedenen Temperaturen geprüft ("Suspensionstest"). Die vierte und als letzte vorgesehene Untersuchung biocoenotischer Vorgänge im Bio-coenose-Simulator nach HARTMANN & SINGRÜN (1968) mußte abgebrochen werden, da das Gerät die erforderlichen Voraussetzungen nicht erfüllte. Mithilfe dieses Gerätes sollte der Einfluß von Stoffwechselmetaboliten mehrerer, in bakteriendichten Käfigen isoliert gehaltener Kulturen geprüft werden.

In der Folge soll die Durchführung dieser Versuchsreihen einschließlich der dazu notwendig gewordenen Vorversuche beschrieben werden.

a) "Agar-Querstrich-Test"

Dazu wurde eine Platte mit einem Impfstrich halbiert und der aufgetragene Stamm zunächst für 18 - 20 Stunden bei 37 °C bebrütet. Senkrecht zu dieser Kultur wurden die zu untersuchenden Reagentenstämme so ausgestrichen, daß sie möglichst dicht an den ersten Impfstrich heranreichten, ohne diesen jedoch zu berühren. Die Ablesung erfolgte nach einer weiteren Kultivierung von 20 - 24 Stunden bei 37 °C.

Die verwendeten Prüfstämme sind aus den Tabellen im Ergebnisteil zu ersehen. In einem Wiederholungsversuch wurden einzelne Stämme zur Absicherung der Ergebnisse nochmals gegeneinander getestet. In allen Fällen wurden jeweils zwei Platten parallel angelegt.

b) "Quantitativer Plattentest" zur Ermittlung des kompetitiven Wachstums

Nach Anzüchtung der Prüfstämme bei 37 °C für 24 Stunden in Pepton-Fleischextrakt-Bouillon, bzw. für die

Enterokokken in Pepton-Hefeextrakt-Bouillon mit 1% Glukose-Zusatz wurden diese Kulturen 20 Minuten bei 3000 U/min. zentrifugiert, der Überstand abgegossen und das Sediment mit physiologischer Kochsalz-Lösung (0.85%ig) auf die Dichte eines Bariumsulfat-Vergleichsstandards (0.3 ml 1%ige Bariumchlorid-Lösung + 9.7 ml 1%ige Schwefelsäure) eingestellt. Die so erhaltenen Keimsuspensionen mit einer angenommenen Keimdichte von $10^7 - 10^8$ /ml wurden als Ausgangsmaterial verwendet und als Verdünnungsstufe "0" bezeichnet. Davon wurden in sterilen Röhrchen Verdünnungsreihen in Zehnerstufen bis zu 10^{-6} angelegt. Als Verdünnungslösung diente eine Phosphatpuffer-Lösung (3.5 g Kaliumdihydrogenphosphat + 6.0 g di-Natriumphosphat + A. dest. ad 1000 ml), die in der Folge kurz als "PPL" bezeichnet wird.

Durch Mischung von jeweils 1 ml aus entsprechenden Verdünnungsstufen von jeweils zwei Stämmen wurden Prüf-Suspensionen hergestellt, von denen nach guter Durchmischung 0.1 ml auf Nährböden ausgespatelt wurden. Alle beimpften Platten wurden bei 37 °C für 20 - 22 Stunden bebrütet. Die Versuchsreihen mit den Clostridien-Species erfolgten analog, jedoch wurde die Bebrütung unter einem Gasgemisch von Stickstoff + 10% CO₂ im Zeissler-Topf bei 37 °C für 40 - 42 Stunden vorgenommen.

Zur Kontrolle wurden aus den zur Mischung benutzten Verdünnungsstufen eines jeden Prüfstammes anfangs unmittelbar, später nach entsprechender Verdünnung von 1:1 ebenfalls je 0.1 ml ausgespatelt.

Da zu Beginn der Versuche ein Fehler beim Kontrollansatz gemacht wurde, indem die weitere Verdünnung von 1:1 beim Mischen unberücksichtigt geblieben war, sollte in einem Zusatzversuch anhand einiger Stämme vergleichend geprüft werden, inwiefern die in den Untersuchungen erzielten Ergebnisse mit dem halbierten Kontrollwert vergleichbar sind. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß sich die Abweichung durch die rein rechnerische Halbierung der Kontrollergebnisse im Rahmen des sowieso zu beachtenden methodischen Fehlerwertes bewegte und somit

eine Auswertung vertretbar erschien.

Anhand eines Vorversuches mit *Ps. aeruginosa* wurde untersucht, ob durch die Verwendung von Pepton-Kochsalz-Lösung (1.0 g Pepton + 8.5 g NaCl + A. dest. ad 1000 ml) an Stelle von PPL andere Ergebnisse zu erwarten waren. Gleichzeitig wurden die beimpften Platten parallel bei 30 °C und 37 °C bebrütet. Beide Vergleiche erbrachten keine wesentlichen Abweichungen, so daß die oben beschriebenen Versuchsanordnungen beibehalten wurden.

In einem weiteren Vorversuch wurden bei sonst analoger Versuchsdurchführung die Bebrütungstemperaturen variiert. Abgesehen von einigen stammspezifischen Einflüssen bei längerdauernder Bebrütung, die im Ergebnisteil aufgeführt werden, zeigten sich keine auffallenden Veränderungen.

Der Prüfung von Mischsuspensionen zweier Stämme mit verschiedenen hohen Inocula diente ein anderer Vorversuch. Die Mischsuspensionen wurden in folgenden Stufen angelegt und Keimzahlbestimmungen in der oben beschriebenen Weise durchgeführt:

Suspension A		Suspension B		Keimzahl- verhältnis
1 ml aus 10^{-4}	+	1 ml aus 10^{-6}	=	$1 : 10^{-2}$
1 ml aus 10^{-5}	+	1 ml aus 10^{-6}	=	$1 : 10^{-1}$
1 ml aus 10^{-5}	+	1 ml aus 10^{-5}	=	1 : 1
1 ml aus 10^{-6}	+	1 ml aus 10^{-5}	=	$1 : 10^1$
1 ml aus 10^{-6}	+	1 ml aus 10^{-4}	=	$1 : 10^2$

Dabei konnte beobachtet werden, daß sich die in höheren Ausgangskeimzahlen vorliegenden Species eindeutig rascher und stärker entwickelten. Aus diesem Grund wurde in allen weiteren Versuchen Wert darauf gelegt, die Differenz der beiden Keimzahlen in der Ausgangsmischsuspension in der Regel so gering wie möglich und selbst in Ausnahmefällen keinesfalls größer als eine Zehnerstufe werden zu lassen.

Im Rahmen des "Quantitativen Plattentests" sollte in einer parallel durchgeführten Versuchsreihe der "verzögerte Antagonismus" untersucht werden. Hierfür wurde eine Reihe von Platten mit je einem Stamm beimpft,

verschieden lange vorbebrütet (30 Minuten, 1, 3 und 6 Stunden), mit je 0.1 ml des zu prüfenden Stammes erneut beimpft und danach bei 37 °C für weitere 18 - 22 Stunden bebrütet.

In dieser Versuchsreihe gelangten im Hauptversuch alle Stämme, in den Vorversuchen sowie im Versuch zum verzögerten Antagonismus die folgenden Stämme zur Verwendung:

Staph. aureus PS 42 D	Sc. faecium var. durans
Klebs. aerogenes	Ps. fluorescens
S. typhimurium	Bac. cereus

In allen Fällen wurden mindestens zwei, in der Mehrzahl drei Platten parallel angelegt.

c) "Suspensionstest"

Dazu wurden die Mischsuspensionen sowohl in PPL als auch in Pepton-Fleischextrakt-Bouillon (in der Folge als PF-Bouillon bezeichnet) und in Pepton-Hefeextrakt-Bouillon mit 1% Glukose-Zusatz (in der Folge als PH-G-Bouillon bezeichnet) angelegt. In einem Vorversuch wurde zunächst die Anwachsrate der überprüften Keime ermittelt, um für die Durchführung des Hauptversuches gewisse Anhaltspunkte hinsichtlich der Wachstumsentwicklung zu erhalten. Die Lagerung erfolgte bei 4 - 6 °C (im Kühlschrank), 10 °C und 20 - 22 °C (Raumtemperatur); Keimzahlbestimmungen wurden bis zu 5 und maximal 12 Tagen durchgeführt. Als Kontr-ollwerte wurden jeweils die frisch angesetzten Mischsuspensionen ausgewertet. Zugleich konnte in diesem Vorversuch ermittelt werden, daß die Anwachsrate in PF-Bouillon und in PH-G-Bouillon nahezu gleich waren, sodaß im weiteren Verlauf nurmehr die PH-G-Bouillon Verwendung fand.

Zur Untersuchung gelangten folgende Stämme:

Staph. aureus PS 42 D	Ps. fluorescens
Klebs. aerogenes	Bac. cereus
Sc. faecium var. durans	

In allen Fällen wurden für die Keimzahlbestimmungen drei Platten parallel angelegt.

d) Versuche mit dem Biocoenose-Simulator
nach HARTMANN & SINGRÜN (1968)

Der Biocoenose-Simulator besteht im Prinzip aus einer Kombination zweier voneinander unabhängiger Systeme, wobei sich im äußeren (Glas-)Behälter das Nährmedium befindet. Drei bakteriendichte Kammern, die der Aufnahme der zu untersuchenden Bakterien-Reinsuspensionen dienen sollen, sind in das Nährmedium so eingetaucht, daß ein weitestgehender Austausch sowohl von Nährstoffen in die eine Richtung als auch von Stoffwechselprodukten in die andere Richtung gewährleistet ist. Das Glasgefäß mit dem Nährsubstrat und die Bakterienkammern sind mit Verschlüssen versehen, durch die während der Bebrütungsphase laufend Prüfmaterial entnommen werden kann. Durch zusätzliche Maßnahmen soll außerdem der Sauerstoffverbrauch, bzw. die Bildung von CO_2 ermittelt werden können.

Die Bebrütung erfolgte in einem Schüttelapparat mit Wasserbad bei 37°C ; als Nährmedium diente Pepton-Hefeextrakt-Bouillon mit 1% Glukose-Zusatz. Untersucht wurde in zwei aufeinanderfolgenden gleichartigen Versuchsreihen das Verhalten von *S. typhimurium* gegenüber den drei *Staph. aureus*-Stämmen PS 71, PS 83 A und PS 42 D.

3. Auswertung der qualitativen und quantitativen Untersuchungen

Die Auswertung des "Agar-Querstrich-Tests" erfolgte nach dem Grad der makroskopisch sichtbaren Wachstumsbeeinflussung, abgestuft nach der Breite der Zone verminderten oder fehlenden Wachstums. Als Stimulierung wurden solche Befunde bezeichnet, bei denen das Wachstum im Bereich des primär ausgestrichenen Stammes deutlich verstärkt war.

Bei den quantitativen Keimzahlbestimmungen wurden alle Platten mit Keimzahlen zwischen 20 und 400 ausgewertet. Der obere Grenzwert wurde dann als vertret-

bar angesehen, wenn keine zu starke Beeinträchtigung der Anwachsrate durch Mangel an Nährbodenfläche anzunehmen war. Durch einen derart gewählten Keimzahlbereich wurde es ermöglicht, daß bei der Anlage von Verdünnungsreihen in Zehnerstufen die dem Grenzbereich sich nähernden Werte aus zwei Verdünnungsstufen ermittelt werden konnten. In einzelnen Fällen wurden zur präzisen Abgrenzung der verschiedenen Keimarten auf den Platten Zusatztests durchgeführt. Dies betraf zum einen die Abgrenzung von *Aeromonas*-*Pseudomonas*-Arten von den *Enterobacteriaceae* durch den Oxydase-Test nach KOVÁCS (1956) in der Modifikation von GABY & HADLEY (1957) und zum anderen die Abgrenzung der *Streptokokken*-Stämme von den *Mikrokokken* durch den Benzidin-Test nach DEIBEL & EVANS (1960).

Aus den Einzelwerten der Keimzahlbestimmungen wurden nach der bei FARMILOE (1954) angegebenen Formel die Mittelwerte berechnet:

$$M_x = \frac{c_x + c_{x+1}}{n_x + 10^{-1} \cdot n_{x+1}},$$

wobei M_x = Mittelwert, bezogen auf die Verdünnungsstufe x

c_x = Summe der Einzelwerte der Verdünnungsstufe x

n_x = Anzahl der ausgewerteten Platten der Verdünnungsstufe x .

Zur Beurteilung der Brauchbarkeit dieser Auswertung wurden die Ergebnisse eines Versuchsdurchganges nach diesem Verfahren berechnet und den arithmetischen Mittelwerten in Tabelle 7 gegenübergestellt.

Die Anwendung dieser Mittelwert-Bestimmung nach FARMILOE wurde deshalb vorgezogen, weil dabei die normalerweise signifikanteren Keimzahlen der niedrigsten auswertbaren Verdünnungsstufe gegenüber denen der nächst-

Tabelle 7

Ergebnisse eines Versuchsdurchganges

Gegenüberstellung des Mittelwertes M_x (berechnet nach der Formel von FARMILOE) und des arithmetischen Mittelwertes $\bar{x}$

M_x	$\bar{x}$
3.40×10^7	3.34×10^7
3.39×10^7	3.21×10^7
3.08×10^7	2.87×10^7
2.92×10^7	2.67×10^7
3.35×10^7	3.23×10^7
3.51×10^7	3.33×10^7
3.69×10^7	3.55×10^7
3.23×10^7	3.05×10^7
3.34×10^7	3.40×10^7
3.84×10^7	3.70×10^7
2.51×10^7	2.42×10^7
3.06×10^7	3.03×10^7
3.27×10^7	3.17×10^7
3.26×10^7	3.28×10^7
3.05×10^7	2.92×10^7

höheren Verdünnungsstufe, die zumeist in der Nähe der unteren Grenze von 20 Keimen/Platte liegen, stärkere Berücksichtigung finden. Bei der Ermittlung des arithmetischen Mittelwertes werden dagegen beide Verdünnungsstufen gleichrangig bewertet. Für Keimzahlbestimmungen mit nur einer auswertbaren Verdünnungsstufe ergeben sich keine Abweichungen.

Da kompetitives Wachstum immer auch eine Frage des verfügbaren Raumes ist, erschien die schwerpunktmäßige Bewertung der stärker bewachsenen Platten im Falle von zwei auswertbaren Verdünnungsstufen, wie sie beim Verfahren nach FARMIOE berücksichtigt wird, als vorteilhafter.

In einem zusätzlichen Versuch sollte der bei der Beurteilung der Ergebnisse des "Quantitativen Plattentests" zu berücksichtigende Fehlerbereich ermittelt werden. Dieser auch als 'range' bezeichnete Bereich entspricht dem absoluten Zahlenunterschied zwischen Maximal- und Minimalwert (KNOCHE, 1971).

Dazu wurde in derselben Weise wie auch im "Quantitativen Plattentest" Klebs. aerogenes gegenüber Staph. aureus PS 83 A und Bac. cereus in insgesamt 8 parallelen Durchgängen überprüft, wobei jedesmal eine neue Verdünnungsreihe angelegt wurde. Die Abweichungen in den Anwachsrate der Mischsuspensionen wurden wiederum prozentual errechnet und in Tabelle 8 zusammen mit den entsprechenden Werten für den Fehlerbereich aufgeführt.

Auf Grund dieses Versuches kann angenommen werden, daß Abweichungen um mehr als 20% mit großer Wahrscheinlichkeit auf signifikante Wachstumsbeeinflussungen hinweisen, während Werte zwischen 10 und 20% nur dann Berücksichtigung finden sollten, wenn dies auf Grund art- oder stammspezifisch einheitlicher Reaktionen als wahrscheinlich anzusehen ist.

Tabelle 8

Versuchsergebnisse zur Ermittlung des Fehlerbereiches ('range')
im "quantitativen Plattentest" - (Angaben in %)

Abweichungen der Anwachsrate von		Klebs. St. aureus		Klebs. aerogenes		Bac. cereus	
im 1. Durchgang		aerogenes	PS 83 A	aerogenes			
2.	"	- 11.2	- 15.0	+	2.0	-	29.8
3.	"	- 10.2	- 16.5	-	1.9	-	20.6
4.	"	- 0.8	- 23.5	+	1.8	-	19.8
5.	"	+	4.8	-	23.5	+	4.6
6.	"	+	3.1	-	17.7	-	4.0
7.	"	-	2.1	-	15.4	-	9.1
8.	"	+	1.7	-	11.7	-	0
	"	+	2.8	-	15.2	+	5.1

Mittelwerte der Abweichungen

-	1.5	-	17.3	-	0.2	-	25.2
---	-----	---	------	---	-----	---	------

Maximale Abweichung vom Mittelwert

zum Maximalwert	-	9.7	-	6.2	-	8.9	-	8.4
zum Minimalwert	+	6.3	+	5.6	+	5.3	+	5.4

Fehlerbereich ('range')

16.0	11.8	14.2	13.8
------	------	------	------

B. Ergebnisse der Untersuchungen

1. "Agar-Querstrich-Test"

Die im "Agar-Querstrich-Test" ermittelten Ergebnisse sind im einzelnen in den Tabellen 9 - 12 aufgeführt, wobei folgende Zeichen verwendet wurden:

- ++ = sehr starke Hemmung (Zone einer deutlichen Wachstumsunterdrückung über 12 mm ϕ)
- + = mäßige, aber deutlich erkennbare Hemmung (Zone bis 12 mm ϕ)
- = keine erkennbare Beeinflussung
- S = wachstumsfördernde Wirkung
- / = Test nicht durchgeführt

Im ersten Versuchsdurchgang wurden alle Stämme außer den verunreinigten Prot. rettgeri, S. dublin und Aeromonas liquefaciens, sowie den Clostridien-Species untersucht. Beim Wiederholungsversuch mit einigen Stämmen konnten die Ergebnisse des ersten Durchganges regelmäßig reproduziert werden. Zwei Platten aus dieser zweiten Versuchsreihe sind in Abb. 1 und 2 wiedergegeben, wobei der primär aufgetragene Stamm in Abb. 1 Staph. aureus PS 71 und in Abb. 2 Providencia ist. Die sekundär aufgetragenen Stämme sind von oben nach unten jeweils:

links: Providencia	rechts: Prot. morgani
Arizona	Prot. mirabilis
S. heidelberg	Prot. vulgaris
S. dublin +)	Enterobact. cloacae
S. enteritidis	Klebs. aerogenes
S. typhimurium	Hafnia
A. liquefaciens ++)	Citrobacter
Ps. fluorescens	E. coli

+) = verunreinigt

++) = nicht angewachsen

In der Folge sollen die wesentlichen Resultate, vor allem hinsichtlich gruppenspezifischer Eigenarten zusammengefaßt werden.

Abb. 1 Hemawirkung durch Staph. aureus PS 71 A

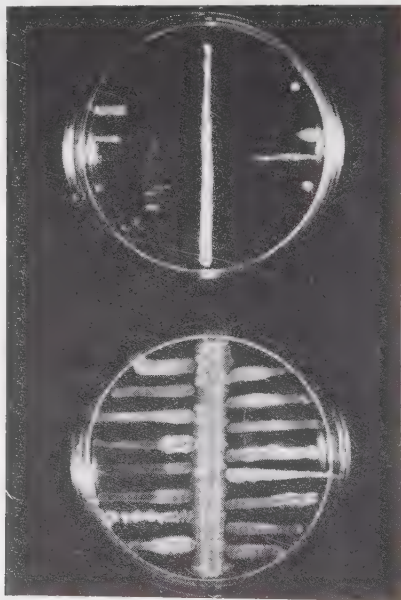


Abb. 2 Stimulierende Wirkung durch Providencia bei fehlender antagonistischer Wirkung

(Die Reihenfolge der aufgetragenen Reagenten-
Stämme ist auf Seite 59 angegeben.)

Tabelle 9

Ergebnisse im "Agar-Querstrich-Test" bei Prüfung
der Enterobacteriaceae untereinander

primär aufgetragene Stämme	sekundär aufgetragene Stämme																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
---	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

(Zeichenerklärung vgl. Seite 59)

Tabelle 10 Ergebnisse im "Agar-querstrich-Test" bei Prüfung der Enterobacteriaceae gegenüber anderen Stämmen

primär aufgetragene Stämme		sekundär aufgetragene Stämme		Pseudo- monas		Staphylokokken				Enterokokken					Bazillen			
				E 27b	E 26b	PS 71	PS 83A	Staph. ontario	PS 42D	Sc 4	Sc 6	Sc 7	Sc 15	Sc 12	B 10	B 13	B 16	B 22
E. coli (E 2)		++	++			+	++	+	+	-	+	-	+	-	+	++	+	++
Citrobacter (E 5b)		++	++			+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+
Hafnia (E 7b)		S	/			S	S	-	-	-	-	-	S	S	-	+	-	-
Klebs. aerogenes (E 10 b)		++	-			+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	/	+	-
Enterob. cloacae (E 13 b)		+	S			S	S	S	S	S	S	S	S	S	-	+	+	-
Prot. vulgaris (E 18 b)		++	++			+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
Prot. mirabilis (E 19 b)		-	/			-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Prot. morganii (E 21 b)		++	++			+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Providencia (E 22 b)		S	+			S	-	S	S	-	-	S	-	-	-	-	-	-
Arizona (E 15 b)		++	++			+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+
S. heidelberg (E 31)		++	++			+	++	+	+	-	+	-	+	+	++	++	+	++
S. enteritidis (E 33)		++	++			-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
S. typhimurium (E 34)		++	++			+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Tabelle 11 Ergebnisse im "Agar-Querstrich-Test" bei Prüfung von *Pseudomonas*-, *Staphylokokken*-, *Enterokokken*- und *Bazillen*-Stämmen gegenüber *Enterobacteriaceae*

primär aufgetragene Stämme sekundär aufgetragene Stämme	E 2	E 5 b	E 7 b	E 10 b	E 13 b	E 18 b	E 19 b	E 21 b	E 22 b	E 15 b	E 31	E 33	E 34
Ps. fluorescens (E 27 b)	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Ps. aeruginosa (E 26 b)	+	+	++	+	+	+	+	+	+	S	+	+	+
Staph. aureus (PS 71)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Staph. aureus (PS 83 A)	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Staph. ontario	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Staph. aureus (PS 42 D)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Sc. faecalis (Sc 4)	++	/	++	++	++	/	++	/	++	++	++	++	++
Sc. zymogenes (Sc 6)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Sc. liquefaciens (Sc 7)	+	++	+	-	+	++	+	++	+	+	+	+	+
Sc. faecium (Sc 15)	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Sc. durans (Sc 12)	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Bac. subtilis (B 10)	+	+	+	S	+	+	-	+	-	+	+	+	+
Bac. megaterium (B 13)	++	/	/	-	/	/	-	/	/	/	+	/	+
Bac. coagulans (B 16)	+	+	+	S	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Bac. cereus (B 22)	-	-	-	S	S	-	-	-	S	S	S	S	S

Tabelle 12

Ergebnisse im "Agar-querstrich-Test" bei Prüfung von Pseudomonas-, Staphylokokken-, Enterokokken- und Bazillen-Stämmen untereinander

sekundär aufgetragene Stämme		Pseu- do- monas	Staphylokokken				Enterokokken				Bazillen			
primär aufgetragene Stämme	E 27 b E 26 b	PS 71 PS 83 A Staph. ontario PS 42 D	Sc 4 Sc 6 Sc 7 Sc 15 Sc 12	B 10 B 13 B 16 B 22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Ps. fluorescens (E 27 b)	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Ps. aeruginosa (E 26 b)	+	-	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Staph. aureus (PS 71)	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	
Staph. aureus (PS 83 A)	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Staph. ontario	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Staph. aureus (PS 42 D)	++	/	/	++	/	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sc. faecalis (Sc 4)	+	/	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sc. zymogenes (Sc 6)	++	++	+	++	++	+	++	++	++	+	+	+	++	
Sc. liquefaciens (Sc 7)	++	++	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	++	
Sc. faecium (Sc 15)	++	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	++	
Sc. durans (Sc 12)	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	
Bac. subtilis (B 10)	+	-	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	++	
Bac. megaterium (B 13)	-	/	++	++	/	++	/	-	-	/	/	/	++	
Bac. coagulans (B 16)	-	-	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	
Bac. cereus (B 22)	+	-	S	S	S	S	-	-	-	-	-	+	-	

a) Staphylokokken

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Staphylokokken

Eine deutliche Wachstumshemmung durch Staphylokokken lag vor bei den Enterobacteriaceae-Species und bei den beiden Pseudomonas-Stämmen. Bazillen wurden nur geringfügig beeinflusst, während die Enterokokken lediglich durch Staph. aureus PS 42 D eine erkennbare einheitliche Beeinträchtigung erfuhren.

Demgegenüber wurde eine nennenswerte Hemmung der Staphylokokken selbst nur durch Bac. coagulans und Bac. megaterium bewirkt. Andere Species wie auch andere Staphylokokken-Stämme waren nicht oder nur in geringem Ausmaß hemmend wirksam.

bb) Stimulierende Einflüsse auf Staphylokokken

Staphylokokken wurden durch Bac. cereus, Enterobact. cloacae, Hafnia und Providencia in ihrem Wachstum begünstigt.

b) Enterobacteriaceae

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Enterobacteriaceae

Die Enterobacteriaceae-Species zeigten gegenüber den beiden Pseudomonas-Arten sowie gegenüber sich selbst, d.h. der ganzen Gruppe der Enterobacteriaceae, eine starke Hemmwirkung. Ausnahmen machten Hafnia, Enterobact. cloacae und Providencia, die sich als deutlich wachstumsfördernd erwiesen.

Andererseits wurden fast alle Enterobacteriaceae durch die Staphylokokken-, Enterokokken- und Pseudomonas-Stämme gehemmt. Lediglich die Bazillen zeigten keine derartigen Wirkungen. Eine Ausnahme unter den Enterobacteriaceae stellte Klebs. aerogenes dar, der fast durchweg unbeeinflusst blieb.

bb) Stimulierende Einflüsse durch und
auf Enterobacteriaceae

Schon zitiert worden sind die stimulierenden Effekte von *Enterobact. cloacae*, *Hafnia* und *Providencia* auf verschiedene Stämme der untersuchten Gruppen mit Ausnahme der Bazillen.

Umgekehrt zeigte auch *Bac. cereus* gegenüber einigen Stammformen der *Enterobacteriaceae*-Gruppe wachstumsfördernde Wirkungen.

c) Enterokokken

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Enterokokken

Die gesamte Gruppe der Enterokokken wirkte hemmend auf *Enterobacteriaceae*- und *Pseudomonas*-Species, während die übrigen Gruppen nur durch *Sc. faecium* var. *durans* beeinflusst wurden.

Eine Wachstumsunterdrückung der Enterokokken selbst erfolgte durch *Ps. aeruginosa*, sowie durch andere Enterokokken-Stämme.

bb) Stimulierende Einflüsse auf Enterokokken

Enterokokken wurden durch *Enterobact. cloacae* in allen und durch *Hafnia* und *Providencia* in einzelnen Fällen in ihrem Wachstum begünstigt.

d) Pseudomonadaceae

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Pseudomonadaceae

Ps. aeruginosa beeinflusste in geringem Umfang fast alle untersuchten Stämme. *Ps. fluorescens* hemmte dagegen vor allem sich selbst sowie die *Enterobacteriaceae*, nicht jedoch die Enterokokken.

Beide *Pseudomonas*-Arten wurden dagegen durch

alle anderen Species - mit Ausnahme der Bazillen - mehr oder weniger deutlich im Wachstum unterdrückt.

bb) Stimulierende Einflüsse durch und auf Pseudomonadaceae

Ps. aeruginosa wirkte in einem Fall (*Providencia*) wachstumsfördernd, während beide *Pseudomonas*-Stämme selbst durch die bereits erwähnten *Enterobacteriaceae*-Species *Enterobact. cloacae*, *Hafnia* und *Providencia* stimuliert wurden.

e) Bazillen

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf Bazillen

Hemmwirkungen zeigten die Bazillen - mit Ausnahme von *Bac. cereus* - nur gegenüber den Staphylokokken.

Auf der anderen Seite wurden auch die Bazillen selbst nur mäßig beeinflusst, wobei lediglich durch einige Staphylokokken- und Enterokokken-Species eine ausgeprägte Hemmung erfolgte.

bb) Stimulierende Einflüsse durch Bazillen

Bac. cereus bewirkte bei allen Staphylokokken und einigen *Enterobacteriaceae* eine Wachstumszunahme.

Zusammenfassend läßt sich feststellen:

1. *Pseudomonas*- und *Enterobacteriaceae*-Stämme wurden gruppenweise gehemmt durch primär kultivierte Staphylokokken und Enterokokken, darüber hinaus aber auch durch einzelne Stämme der *Pseudomonas*- und *Enterobacteriaceae*-Gruppen selbst.
2. *Ps. fluorescens* zeigte eine ziemlich starke Hemmwirkung auf *Enterobacteriaceae* und die beiden *Pseudomonas*-Prüfstämme selbst. *Ps. aeruginosa* war dagegen nur wenig wirksam.

3. Klebs. aerogenes erwies sich insgesamt als am wenigsten empfindlich.
4. Auch bei den Enterokokken zeigte sich fast immer eine deutliche Resistenz gegenüber den anderen Keimarten.
5. Stimulierende Effekte bewirkten Enterobact. cloacae (bei 21 von 28 überprüften Stämmen), Providencia (16 mal), Hafnia (10 mal bei 24 Stämmen) und Bac. cereus (bei allen vier Staphylokokken- und 7 Enterobacteriaceae-Stämmen).

2. "Quantitativer Plattentest" zur Ermittlung kompetitiver Wirkungsmechanismen

Nach der Ermittlung der Anwachsrate der einzelnen Species in der Mischkultur und in der Einzelkultur auf Plattennährböden wurden die Abweichungen der Anwachsrate, bezogen auf die der Kontrollsuspensionen, errechnet und in % angegeben. Dabei wurden nur die absoluten Keimzahlmittelwerte der ausgewerteten Platten angegeben, da die jeweilige Verdünnungsstufe ohne Bedeutung ist. In den Tabellen 13 und 14 sind die Einzelergebnisse zweier Versuchsdurchgänge aufgeführt. *Ps. fluorescens* erwies sich als deutlich unterdrückt (Tabelle 13), während *Sc. faecium* als vergleichsweise wenig beeinflusster und anderen Stämmen gegenüber teilweise hemmend wirkender Stamm ermittelt wurde (Tabelle 14). Eine graphische Zusammenstellung aller Resultate wurde in den Abb. 3 bis 5 versucht, wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung haben:



= Anwachsrate in der Mischkultur um 30 % und mehr reduziert



= Anwachsrate um 20 - 30 % reduziert



= Anwachsrate um 10 - 20 % reduziert

Abb. 3

Ergebnisse im quantitativen Plattenzest bei Prüfung von Enterobacteriacee gegenüber Aeromonas - Stämmen

Abb. 3

Ausg.	Reagenzien	Aerom.-Ps.	Staphylokokken	Enterokokken	Bazillen	Clostridien
	<u>Effektoren</u>	(E 35) (E 27b) (E 26b)	(PS 71) (PS 83A) St.ontario (PS 42D)	(Sc 4) (Sc 6) (Sc 7) (Sc 15) (Sc 12)	(B 10) (B 13) (B 16) (B 22)	Cl.(P1) Cl.(P13) Cl.(W4)
	E.coli (E 2)					
	Citrobacter (E 5b)					
	Hafnia (E 7b)					
	Klebs.aerogenes (E10b)					
	Enterob. cloacae(E13b)					
	Prot. vulgaris (E 18b)					
	Prot. mirabilis (E 19b)					
	Prot. rettgeri (E 20b)					
	Prot. morganii (E 21b)					
	Providencia (E 22b)					
	Arizona (E15b)					
	S.heidelberg (E 31)					
	S.dublin (E 32)					
	S.enteritidis (E 33)					
	S.typhimurium (E 34)					

Ergebnisse im quantitativen Plattenzest bei Prüfung von Aëromonas-Pseudomonas-, Staphylo- -kokken-, Enterokokken-, Bacillaceae -Stämmen gegenüber Enterobacteriaceae

[illegible]

Ergebnisse im quantitativen Plattenzest bei Prüfung von Aeromonas -Pseudomonas-, Staphylokokken-, Enterokokken- und Bacillaceae-Stämmen gegeneinander

Ergebnisse im quantitativen Plattenzest bei Prüfung von Aeromonas -Pseudomonas-, Staphylokokken-, Enterokokken- und Bacillaceae-Stämmen gegeneinander

ADD. 2					
Effektoren	Regenten				
	Aerom. - Ps.				
<i>Aeromonas liquefaciens</i> (E 35)	(E 35)				
<i>Ps. fluorescens</i> (E 27b)	(E 27b)				
<i>Ps. aeruginosa</i> (E 26b)	(E 26b)				
<i>Staph. aureus</i> (PS 71)					
<i>Staph. aureus</i> (PS 83A)					
<i>Staph. antario</i>					
<i>Staph. aureus</i> (PS 42D)					
<i>Sc. faecalis</i> (Sc 4)					
<i>Sc. faecalis v. zymogenes</i> (Sc 6)					
<i>Sc. faecalis v. liquefaciens</i> (Sc 7)					
<i>Sc. faecium</i> (Sc 15)					
<i>Sc. faecium v. durans</i> (Sc 12)					
<i>Bac. subtilis</i> (B 10)					
<i>Bac. megaterium</i> (B 13)					
<i>Bac. coagulans</i> (B 16)					
<i>Bac. cereus</i> (B 22)					
<i>Cl. perfringens</i> (P 1)					
<i>Cl. perfringens</i> (P 13)					
<i>Cl. perfringens</i> (W 4)					
<i>Staphylokokken</i>	(PS 71)				
	(PS 83A)				
	<i>St. antario</i>				
	(PS 42 D)				
<i>Enterokokken</i>	(Sc 4)				
	(Sc 6)				
	(Sc 7)				
	(Sc 15)				
	(Sc 12)				
<i>Bazillen</i>	(B 10)				
	(B 13)				
	(B 16)				
	(B 22)				
<i>Clostridien</i>	<i>Cl. (P 1)</i>				
	<i>Cl. (P 13)</i>				
	<i>Cl. (W 4)</i>				

Tabelle 13

Ergebnisse im "quantitativen Plattentest"
Keimzahlmittelwerte der ausgewerteten Platten von Staphylokokken,
Enterokokken und Bacillaceae in der Einzel- und Mischkultur mit
Ps. fluorescens, sowie die Abweichungen der Anwachsrate in %

<u>Effektor:</u>	Kon- trolle	Misch- susp.	Abwei- chung	<u>Reagenzien:</u>	Kon- trolle	Misch- susp.	Abwei- chung
Ps. fluorescens (E 27b)	47.5	31.4	- 34.0	Staph. aureus (PS 71)	32.4	25.8	- 20.0
	47.5	36.4	- 23.4	Staph. aureus (PS 83 A)	15.9	16.5	+ 4.0
	47.5	30.4	- 36.0	Staph. ontario	38.0	34.5	- 9.2
	30.3	22.4	- 26.0	Staph. aureus (PS 42 D)	89.5	78.8	- 11.8
	25.7	16.3	- 35.2	Sc. faecalis (Sc 4)	77.5	88.3	+ 13.2
	23.9	18.9	- 20.8	Sc. zymogenes (Sc 6)	35.7	42.0	+ 21.2
	23.9	17.7	- 26.0	Sc. liquefaciens (Sc 7)	59.0	50.3	- 14.8
	23.9	13.2	- 45.0	Sc. faecium (Sc 15)	62.0	66.9	+ 8.0
	23.9	14.2	- 40.2	Sc. durans (Sc 12)	62.5	71.0	+ 13.4
	35.0	27.9	- 20.2	Bac. subtilis (B 10)	28.0	30.9	+ 10.6
	36.3	38.8	+ 7.8	Bac. megaterium (B 13)	18.5	20.4	+ 13.0
	29.3	34.3	+ 17.2	Bac. coagulans (B 16)	65.0	62.1	- 4.4
	29.3	17.9	- 38.8	Bac. cereus (B 22)	36.2	42.0	+ 13.0
	29.8	26.8	- 10.2	Cl. perfringens (P 1)	17.0	17.6	+ 3.6
	29.8	22.6	- 24.2	Cl. perfringens (P 13)	21.4	25.1	+ 17.6
	28.3	20.4	- 28.0	Clostridium-Stamm (W 4)	25.9	32.8	+ 22.8

Tabelle 14

Ergebnisse im "quantitativen Plattentest"
Keimzahlmittelwerte der ausgewerteten Platten von *Aeromonas*, *Pseudomonas*,
daceae, *Staphylokokken* und *Bacillaceae* in der Einzel- und Mischkultur mit
Sc. faecium, sowie die Abweichungen der Anwachsrate in %

<u>Effektor:</u>	Kon- trolle	Misch- susp.	Abwei- chung	<u>Reagenten:</u>	Kon- trolle	Misch- susp.	Abwei- chung
<i>Sc. faecium</i> (Sc 15)	62.0	76.1	+ 22.8	<i>A. liquefaciens</i> (E 35)	49.0	37.8	+ 17.4
	62.0	67.0	+ 8.0	<i>Ps. fluorescens</i> (E 27 b)	23.9	13.2	- 45.0
	62.0	69.7	+ 12.4	<i>Ps. aeruginosa</i> (E 26 b)	85.1	54.7	- 35.6
	62.0	70.3	+ 13.4	<i>Staph. aureus</i> (PS 71)	74.0	84.2	+ 13.9
	62.0	64.3	+ 3.8	<i>Staph. aureus</i> (PS 83 A)	101.0	85.3	- 16.4
	62.0	69.7	+ 12.4	<i>Staph. ontario</i>	94.9	93.6	- 2.2
	110.0	114.0	+ 3.6	<i>Staph. aureus</i> (PS 42 D)	127.5	119.0	- 7.4
	25.2	19.5	- 21.8	<i>Bac. subtilis</i> (B 10)	28.5	35.9	+ 26.0
	31.3	39.4	+ 26.0	<i>Bac. megaterium</i> (B 13)	18.5	15.8	- 14.6
	110.0	127.6	+ 16.0	<i>Bac. coagulans</i> (B 16)	65.0	62.9	- 3.2
	110.0	89.0	- 18.6	<i>Bac. cereus</i> (B 22)	36.3	33.0	- 9.0
	12.7	14.9	+ 17.8	<i>Cl. perfringens</i> (P 1)	17.0	11.9	- 30.0
	12.7	11.5	- 9.8	<i>Cl. perfringens</i> (P 13)	21.4	23.4	+ 9.6
	26.4	20.8	- 21.2	<i>Clostridium</i> -Stamm (W 4)	25.9	29.0	+ 12.0



= Zunahme der Anwachsrate

Auf Grund des ermittelten Fehlerbereiches (vgl. Tabelle 8) fanden Werte unter 10 % keine Berücksichtigung. Da im Rahmen dieser Versuche in einzelnen Fällen Zunahmen der Anwachsrate von 20 % und mehr ermittelt wurden, soll die Bewertung des Bereiches von 10 - 20 % nur dort mit einbezogen werden, wo sie auf Grund der gruppen- oder artspezifischen Eigenschaften im Rahmen der übrigen Ergebnisse vertretbar erschien.

In der Folge sollen die wesentlichen Befunde, insbesondere hinsichtlich gruppenspezifischer Eigenschaften zusammengefaßt werden:

a) Staphylokokken •

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Staphylokokken

Staphylokokken wirkten hemmend auf die *Aeromonas-Pseudomonas-Species*. Dagegen wurden alle anderen Keimgruppen mit Ausnahme der völlig unbeeinflussten Clostridien nur unregelmäßig und geringfügig unterdrückt. *Staph. aureus* PS 42 D übte dabei die stärkste Wirkung aus.

Die Beeinflußbarkeit der Staphylokokken durch *Enterobacteriaceae* erwies sich als stammbedingt. *Staph. aureus* PS 83 A reagierte am empfindlichsten, *Staph. aureus* PS 42 D am wenigsten. Eine Beeinträchtigung durch die übrigen Keimgruppen war nur in geringem Maße vorhanden.

bb) Wachstumsbegünstigende Einflüsse
durch Staphylokokken

Die Anwachsrate von einigen *Enterobacteriaceae*-Stammformen waren bei der gemeinsamen Kultivierung mit Staphylokokken erhöht.

b) Enterobacteriaceae

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Enterobacteriaceae

Nur einzelne Stämme (Klebs. aerogenes) oder Gruppen (Arizona-Salmonella-Gruppe) zeigten eine ausgeprägte hemmende Wirkung.

Andererseits erwiesen sich die Enterobacteriaceae-Species als nur geringfügig beeinflussbar.

bb) Begünstigende Einflüsse durch und
auf Enterobacteriaceae

Einige Species führten bei Sc. faecalis var. zymogenes zu deutlichen Steigerungen der Anwachsrate.

Auf der anderen Seite schien eine Reihe von Enterobacteriaceae durch Bac. cereus im Wachstum begünstigt zu werden.

c) Enterokokken

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Enterokokken

Intensiv hemmend wirkten die Enterokokken auf die beiden Pseudomonas-Arten. Sonst war ihre Wirksamkeit nur mäßig und ungleichmäßig verteilt.

Die Enterokokken-Stämme selbst wurden nur durch Klebs. aerogenes und Bac. subtilis gehemmt. Eine unerwartete Bestätigung der Wirkung des Klebs. aerogenes-Stammes wurde durch den mit Klebsiella verunreinigten Prot. rettgeri-Stamm erbracht. Die bei weitem ausgeprägteste Resistenz zeigte Sc. faecalis var. zymogenes.

d) Aeromonas-Pseudomonas-Gruppe

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf Keime
der Aeromonas-Pseudomonas-Gruppe

Eine deutliche Hemmwirkung war nur gegenüber den Staphylokokken zu erkennen.

Demgegenüber erwiesen sich insbesondere die

beiden *Pseudomonas*-Stammformen als durch die Mehrzahl der überprüften Species beeinflussbar. Nur von *Bac. megaterium* und *Bac. coagulans* gingen keine Wirkungen aus.

e) Bacillaceae

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Bacillaceae

Hier zeigte sich eine gruppenspezifische Hemmwirkung von *Bacillus*- auf *Clostridium*-Arten. *Bac. subtilis* und *Bac. cereus* wirkten außerdem auf Staphylokokken-, Enterokokken- und *Aeromonas-Pseudomonas*-Species, während gegenüber den *Enterobacteriaceae* solche Einflüsse nur vereinzelt nachweisbar waren. Von den Clostridien zeigte der Typ "W 4" eine Wirksamkeit auf die beiden *Pseudomonas*-Arten, sowie auf Keime der *Coli-Enterobacter*-Gruppe.

Eine Wachstumsbeeinflussung der *Bacillaceae* erfolgte durch die *Salmonella*-Species und - mit Ausnahme von *Bac. subtilis* - auch durch die *Coli-Enterobacter*-Gruppe.

bb) Begünstigende Einflüsse durch und
auf Bacillaceae

Wachstumsfördernde Wirkungen zeigte *Clostridium* "W 4" gegenüber den Bazillen, sowie alle drei Clostridien-Species auf *Bac. coagulans*.

Die Anwachsrate der Clostridien selbst erfuhren bei der gemeinsamen Kultivierung mit *Pseudomonas*- und Staphylokokken-Stämmen eine Zunahme. Den gleichen Effekt übten einige *Enterobacteriaceae*-Arten auf *Bac. cereus* aus.

Ergänzend soll auf einige besondere koloniemorphologische Befunde hingewiesen werden. Bei längerer Bebrütungsdauer konnten an den Staphylokokken-Stämmen PS 83 A und PS 42 D in einigen Mischkulturen folgende Erscheinungen festgestellt werden:

- a) Bei Kultivierung mit *Ps. fluorescens* kam es nach 3 Tagen zu einer deutlichen blaßrosafarbenen bis rost-

roten Pigmentierung der Staphylokokken, die sonst nicht beobachtet werden konnte.

- b) Bei Kultivierung mit *Sc. faecium* var. *durans* und *Bac. subtilis*, sowie in geringerem Ausmaße mit *S. enteritidis* und *S. typhimurium* bildeten sich innerhalb von 2-3 Tagen zahlreiche kleine Tochterkolonien aus. Diese führten entweder zu einer wallartigen Erhöhung am Rand der Primärkolonie (PS 83 A) oder sie strahlten sternförmig aus (PS 42 D). Diese Beobachtungen waren reproduzierbar.

Zusammenfassend läßt sich feststellen:

1. Die beiden *Pseudomonas*-Arten wurden durch Staphylokokken und Enterokokken deutlich gehemmt sowie vereinzelt durch Stämme anderer Keimgruppen.
2. Zwei von drei *Staph. aureus*-Species wurden von fast allen Enterobacteriaceae beeinflusst, wobei *Klebs. aerogenes* die ausgeprägteste Hemmwirkung zeigte.
3. Alle Enterokokken wurden durch *Klebs. aerogenes* gehemmt.
4. Bazillen-Stämme wurden durch die Enterobacteriaceae, vorwiegend aus den Gruppen der Coliformen und der Salmonellen, kaum jedoch aus der Gruppe der Proteae gehemmt.
5. *Cl. perfringens*-Species wurden durch Bazillen deutlich unterdrückt.
6. Zunahmen in den Anwachsraten bewirkten einzelne Enterobacteriaceae, insbesondere bei *Sc. faecalis* var. *zymogenes*. *Bac. subtilis* wurde von unterschiedlichen Species begünstigt; das gleiche war bei einem Clostridien-Stamm der Fall.

3. "Quantitativer Plattentest" zur parallelen Untersuchung des "simultanen" und "verzögerten" Antagonismus

In Abwandlung des im vorigen Abschnitt beschriebenen simultanen Plattentests wurden in diesem Versuch die Effektorstämme eine bestimmte Zeit vorbebrütet. Um einen direkten Vergleich zu ermöglichen, wurden die Stämme auch gleichzeitig simultan kultiviert.

Bei der Auswertung war zunächst festzustellen, daß nach 3, spätestens aber nach 6 Stunden bereits ein makroskopisch nicht sichtbares Bakterienwachstum eingetreten war und auf Grund des Ausspatelns im sekundären Beimpungsprozeß diese Kolonien erneut über die Platte verteilt worden waren und nach der weiteren Bebrütung zur Rasenbildung geführt hatten. Die im folgenden aufgeführten Ergebnisse beziehen sich deshalb lediglich auf die für 30 oder 60 Minuten vorbebrüteten Platten.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse wurde graphisch in Abb. 6 versucht, wobei die Angaben in der jeweils linken Hälfte der senkrechten Spalten sich auf das Verhalten des primär aufgetragenen Keimes, die in der jeweils rechten Hälfte auf das Verhalten des sekundär aufgetragenen Keimes beziehen. Die verwendeten Symbole haben dabei folgende Bedeutung:

	= Anwachsrate um mehr als 70 % reduziert
	= Anwachsrate um mehr als 40 % reduziert
	= Anwachsrate geringfügig reduziert
	= Anwachsrate unverändert

Zusammenfassend läßt sich feststellen:

1. Klebs. aerogenes wirkte, wie schon im simultanen "Quantitativen Plattentest", auf die anderen Keime

(*S. typhimurium*, *Staph. aureus* PS 42 D, *Ps. fluorescens*, *Sc. faecium* var. *durans*, *Bac. cereus*) am stärksten hemmend, zum Teil auch dann noch, wenn er sekundär aufgetragen worden war.

2. *Klebs. aerogenes* wies zudem die bei weitem geringste Beeinflußbarkeit auf.
3. Der selbst kaum hemmend wirkende *Bac. cereus*-Stamm wurde bei sekundärem Auftragen fast vollständig unterdrückt. Ein ähnliches Verhalten in mäßigem Umfang zeigte auch *Staph. aureus* PS 42 D.
4. Die drei übrigen Species reagierten weniger regelmäßig, wobei sich auch eine Abhängigkeit von der Reihenfolge des Aufbringens feststellen ließ.
5. Der zum Vergleich durchgeführte "Simultan-Test" erbrachte weitgehend die Resultate, die auch im vorausgegangenen "Quantitativen Plattentest" ermittelt worden waren. Lediglich die nur mäßig ausgeprägte Beeinflußbarkeit von *Sc. faecium* var. *durans* durch *Ps. fluorescens* und *S. typhimurium* war dort nicht beobachtet worden.

4. "Suspensionstest"

Mischkulturen der überprüften Species wurden in Phosphat-Pufferlösung (in der Folge = PPL) und Pepton-Hefsextrakt-Bouillon mit 1% Glukose-Zusatz (in der Folge = PH-G-Bouillon) über einen Zeitraum von 8 Tagen gelagert und in regelmäßigen Intervallen Keimzahlbestimmungen durchgeführt. Als Kontrollwert dienten die Keimzahlen der frisch angesetzten Mischkulturen, sowie parallel untersuchte Reinkulturen. Die in den Abb. 7 und 8 aufgeführten Ergebnisse zeigen in graphischer Darstellung das Verhalten der Reagenten in Mischsuspensionen gegenüber dem in Reinkulturen, wobei die Symbole folgende Bedeutungen haben:

Abb. 7 Ergebnisse im Suspensionstest (Verhalten der Mischkulturen bei 4-6°C, 10-12°C und 20-22°C innerhalb von 2-6 Tagen)
I. in Phosphat-Pufferlösung

Effektoren		Reagenten	Klebs. (E 10b)	Ps. fluor. (E 27b)	Staph. (PS 42D)	Sc. faec. (Sc 12)	Bac. cer. (B 22)
Klebsiella aerogenes (E 10b)	4-6°C						
	10-12°C						
	20-22°C						
Ps. fluorescens (E 27b)	4-6°C						
	10-12°C						
	20-22°C						
Staph. aureus (PS 42D)	4-6°C						
	10-12°C						
	20-22°C						
Sc. faecium v. durans (Sc 12)	4-6°C						
	10-12°C						
	20-22°C						
Bac. cereus (B 22)	4-6°C						
	10-12°C						
	20-22°C						

Abb. 8 Ergebnisse im Suspensionstest (Verhalten der Mischkulturen bei 4-6°C, 10-12°C und 20-22°C innerhalb von 2-6 Tagen)
II. in Pepton-Hefeextrakt-Bouillon mit 1% Glukose-Zusatz

Effektoren Reagenten		Klebs. (E10b)	Ps. fluor. (E 27b)	Staph. (PS 42D)	Sc. faec. (Sc 12)	Bac. cer. (B 22)
Klebsiella aerogenes (E 10b)	4-6°C					
	10-12°C					
	20-22°C					
Ps. fluorescens (E 27b)	4-6°C					
	10-12°C					
	20-22°C		S	S		
Staph. aureus (PS 42D)	4-6°C					
	10-12°C					
	20-22°C					
Sc. faecium v. durans (Sc 12)	4-6°C					
	10-12°C					
	20-22°C					
Bac. cereus (B 22)	4-6°C					
	10-12°C					
	20-22°C					



= Abnahme der Anwachsrate in der Mischsuspension um mehr als 3 Zehnerstufen



= Abnahme um mehr als 2 Zehnerstufen



= Abnahme um mehr als 1 Zehnerstufe



= Zunahme um mehr als 2 Zehnerstufen

In der Folge sollen die Ergebnisse dieser Versuchsreihe in der bisherigen Form zusammengefaßt werden:

a) Staph. aureus PS 42 D

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Staph. aureus

Hemmende Wirkungen zeigte dieser Staphylokokken-Stamm in PPL gegenüber den anderen Species bei allen Temperaturen, am ausgeprägtesten allerdings bei 20 - 22 °C. In PH-G-Bouillon konnten nennenswerte Beeinträchtigungen lediglich gegenüber *Sc. faecium* var. *durans* und *Bac. cereus* bei 4 - 6 °C und 10 - 12 °C beobachtet werden.

Eine deutliche Beeinflussung von *Staph. aureus* konnte in PPL durch *Klebs. aerogenes* und *Sc. faecium* var. *durans* bei 4 - 6 °C und 10 - 12 °C ermittelt werden, während in PH-G-Bouillon Hemmwirkungen nur vereinzelt gefunden wurden.

bb) Begünstigende Einflüsse auf Staph. aureus

Eine nennenswerte Stimulierung erfuhr *Staph. aureus* durch *Ps. fluorescens* bei 20 - 22 °C in PH-G-Bouillon.

b) Klebs. aerogenes

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Klebs. aerogenes

In PPL führte *Klebs. aerogenes* zu einer mehr

oder weniger regelmäßigen Abnahmen der übrigen Species um 1-2 Zehnerstufen. In PH-G-Bouillon erwies sich der Klebs. aerogenes-Stamm besonders gegenüber Bac. cereus bei allen Temperaturen und gegenüber Sc. faecium var. durans bei 4-6 °C und 10-12 °C als hemmend wirksam.

Auffallend war die nahezu regelmäßige Abnahme von Klebsiella in Mischkulturen bei Lagerung in PPL. Lediglich durch Bac. cereus bei 10-12 °C und 20-22 °C erfolgte keine Beeinträchtigung. Dagegen fand in Bouillon eine Unterdrückung von Klebsiella nur bei 4-6 °C und zudem nur in sehr geringem Ausmaße statt.

bb) Begünstigende Einflüsse auf
Klebs. aerogenes

In der Mischkultur mit Sc. faecium var. durans konnte in PH-G-Bouillon bei Raumtemperatur eine zunächst sehr starke Zunahme der Klebsiella-Keime in den ersten beiden Tagen ermittelt werden, die jedoch durch eine gleich starke Abnahme nach etwa 5 Tagen wieder ausgeglichen wurde.

c) Sc. faecium var. durans

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Sc. faecium var. durans

Wachstumsunterdrückende Effekte zeigte dieser Enterokokken-Stamm in PPL vor allem gegenüber klebsiella sowie bei 4-6 °C und 10-12 °C auch gegenüber den anderen Species. Ähnliche Wirkungen waren in PH-G-Bouillon nur vereinzelt festzustellen, wobei am auffallendsten die Abnahme von Bac. cereus um 4 Zehnerstufen bei Raumtemperatur war.

Nur mäßig war die Beeinflussbarkeit von Sc. faecium var. durans in PPL, wobei Staph. aureus die stärkste Wirkung hatte. In PH-G-Bouillon fand dagegen bei 4-6 °C und 10-12 °C eine generelle, starke Unterdrückung statt, die zu Abnahmen um 2-5 Zehnerstufen führte.

bb) Begünstigende Einflüsse durch und
auf Sc. faecium var. durans

Bac. cereus wurde durch den Enterokokken-Stamm in PPL bei 10 - 12 °C deutlicher stimuliert. Außerdem war bei Ps. fluorescens (in PPL) und Klebs. aerogenes (in PH-G-Bouillon) jeweils bei 20 - 22 °C in den ersten beiden Tagen eine deutliche Zunahme um 2 - 3 Zehnerstufen zu beobachten, die jedoch durch gleichwertige Abnahmen nach 4 - 5 Tagen wieder kompensiert wurden.

Eine fast regelmäßige Wachstumsbegünstigung erfuhr Sc. durans in beiden Medien bei Raumtemperatur, wobei Ps. fluorescens den jeweils deutlichsten Effekt hatte.

d) Ps. fluorescens

aa) Hemmende Einflüsse durch und auf
Ps. fluorescens

Geringfügige Hemmwirkungen zeigte Ps. fluorescens in PPL mehr oder weniger deutlich gegenüber fast allen Stämmen, während in PH-G-Bouillon lediglich Sc. faecium var. durans (bei 4 - 6 °C und 10 - 12 °C) und Bac. cereus (bei 20 - 22 °C) beeinflusst wurden.

Eine Wachstumsbeeinflussung von Ps. fluorescens erfolgte in beiden Medien durch die anderen Species in unterschiedlichem Ausmaß.

bb) Begünstigende Einflüsse durch und
auf Ps. fluorescens

Durch Ps. fluorescens wurden Sc. faecium var. durans (in beiden Medien) und Staph. aureus PS 42 D (in PH-G-Bouillon) bei Raumtemperatur deutlich stimuliert.

In der Mischkultur mit Sc. faecium var. durans (bei 20 - 22 °C in PPL) wurde eine zunächst feststellbare deutliche Zunahme durch eine entsprechende Abnahme nach einigen Tagen wieder ausgeglichen.

e) Bac. cereus

aa) Hemmende Einflüsse durch und
auf Bac. cereus

Abgesehen von der deutlichen Abnahme von *Sc. faecium* var. *durans* in Bouillon bei 4 - 6 °C und 10 - 12 °C hatte *Bac. cereus* nur vereinzelt hemmende Wirkung.

Demgegenüber wurde *Bac. cereus* in beiden Medien und bei allen überprüften Temperaturen durch nahezu alle Species mehr oder weniger deutlich beeinflusst.

bb) Begünstigende Einflüsse durch
und auf Bac. cereus

Während der Bazillen-Stamm in einzelnen Fällen wachstumsfördernde Wirkungen geringen Umfanges ausübte, fand eine nennenswerte Stimulierung von *Bac. cereus* selber nur durch *Sc. faecium* var. *durans* bei 10 - 12 °C statt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden:

1. In Phosphat-Pufferlösung (PPL) wiesen die untersuchten Species *Staph. aureus* PS 42 D, *Klebs. aerogenes*, *Sc. faecium* var. *durans*, *Ps. fluorescens* und *Bac. cereus* bei 4 - 6 °C und 10 - 12 °C in beinahe allen Fällen eine Abnahme um bis zu 3 Zehnerstufen auf, wobei insbesondere *Klebsiella* auffallend stark reduziert war.
2. *Sc. faecium* var. *durans* wurde in Pepton-Hefeextrakt-Glukose-Bouillon bei 4 - 6 °C und 10 - 12 °C von allen anderen Keimen sehr stark beeinflusst.
3. *Bac. cereus* wurde in Pepton-Hefeextrakt-Glukose-Bouillon am deutlichsten bei 20 - 22 °C gehemmt.
4. *Ps. fluorescens* (in PPL) und *Klebs. aerogenes* (in Bouillon) wurden bei Raumtemperatur in den ersten beiden Tagen durch *Sc. faecium* var. *durans* zuerst stimuliert, dann jedoch gehemmt, was nach weiteren

2 - 3 Tagen zu einer, dem Kontrollwert entsprechenden Anwachsrate führte.

5. Versuche mit dem "Biocoenose-Simulator" nach HARTMANN & SINGRÜN (1968)

Es war in zahlreichen Probeläufen zur Inbetriebnahme des Gerätes festgestellt worden, daß die als "bakteriendicht" gelieferten Kammern tatsächlich nicht bakterien-dicht waren. In den beiden beschriebenen Versuchsdurchgängen konnte im Nährmedium nach 24 - 48 Stunden das Vorliegen des oder der betreffenden Stämme in unterschiedlich hohen Anteilen nachgewiesen werden. Da dies im Prinzip dem bereits vorher durchgeführten "Suspensionstest" - wenn auch im weitaus größeren Volumen - entsprach, und die gerade mit Hilfe dieses Gerätes erhofften Aufschlüsse demzufolge nicht zu erwarten waren, andererseits das Gerät seitens der Herstellerfirma bis heute nicht in den erforderlichen Zustand gebracht worden ist, mußten die begonnenen Untersuchungen abgebrochen werden.

Die drei durchgeführten Versuche mit *S. typhimurium* und den *Staph. aureus*-Stämmen PS 71, PS 83 A und PS 42 D erbrachten nach 36 bzw. 48 Stunden, insbesondere beim Stamm PS 83 A und in geringerem Maße auch beim Stamm PS 42 D, Abnahmen der Anwachsrate um 1 - 2 Zehnerstufen gegenüber den Reinsuspensionen.

C. Besprechung der Ergebnisse

Die erforderlichen methodischen Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Testmethoden, sowie die Absicht, einen Überblick über möglichst viele Gruppen von Lebensmittelmikroorganismen zu erlangen, erlaubten nur die Verwendung einer begrenzten Anzahl von Stämmen aus jeder Keimgruppe. Dabei wurden bei der Auswahl der Teststämme folgende Gesichtspunkte berücksichtigt. Zum einen wurden solche Stämme bevorzugt, die lebensmittelhygienisch als Intoxikations-, Toxininfektions- oder Verderbniserreger bedeutsam sind. Zum anderen wurden einzelne Stämme auf Grund besonderer Literaturhinweise (Bac. subtilis als "Subtilin"-Bildner, DIMICK et al., 1947), wegen der Verwendung bei vorangegangenen Untersuchungen über antagonistische Aktivitäten von Milchsäurebakterien (REUTER, 1972) oder als vorhandener und erforderlich erscheinender Vergleichskeim (Staph. ontario zu Staph. aureus) ausgewählt. Für die Versuche zum "verzögerten" Antagonismus und zum "Suspensionstest" konnte nur jeweils ein Vertreter einer jeden Keimgruppe herangezogen werden. Dabei wurden jene Stämme verwendet, die zuvor bereits im "Agar-Querstrich-Test" und/oder im "Quantitativen Plattentest" deutliche Reaktionen gezeigt hatten.

Da mit Unterschieden in Wirkungsbreite und -qualität bei verschiedenen Isolaten derselben Species zu rechnen ist (GARDNER, 1950; OBERHOFER & FRAZIER, 1961; TROLLER & FRAZIER, 1963 a, b; LOTT, 1971), können die ermittelten Befunde nicht ohne weiteres als absolute Ergebnisse gewertet werden. Sie können vielmehr nur Tendenzen aufzeigen, die es ermöglichen, jene in der Literatur bereits angegebenen Daten zu ergänzen oder in Zweifel zu stellen, sowie Anregungen zu weiteren gezielten und eingehenden Untersuchungen mikrobiocoenotischer Prozesse zu geben.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten experimentellen Untersuchungen ist die methodische Aussagekraft unterschiedlich zu beurteilen.

So war im "Agar-Querstrich-Test" auf Grund

seiner allenfalls semi-quantitativen Konzeption mit methodischen Fehlern nur in geringem Umfang zu rechnen. Als wesentlich mußte nur vorausgesetzt werden, daß sich die Prüfstämme im etwa gleichen Vitalitätsstadium befanden. Die Größe der Inocula spielte offensichtlich keine Rolle, sodaß die Verwendung von Ösen mit einheitlichem Kaliber nicht erforderlich war. Befürchtungen, daß es wegen des häufigen Öffnens der Platten vermehrt zu Kontaminationen kommen könnte, erwiesen sich bei sachgemäßer Durchführung als unbegründet. Es blieben schließlich noch die auf die Nährbodenplatten zurückzuführenden Fehler zu berücksichtigen. Zu ihrer Ausschaltung wurden daher grundsätzlich jeweils zwei Platten parallel angelegt, wie auch zur Vermeidung von Beeinflussungen durch unterschiedliche a_w - und pH-Werte nur Platten der jeweils gleichen Herstellungscharge Verwendung fanden.

Unter diesen Voraussetzungen bot der "Agar-Querstrich-Test" eine sehr sichere und zugleich empfindliche Nachweismethode für solche antagonistische oder synergistische Stoffwechselprodukte, die im Laufe der Vermehrung der Mikroorganismen kontinuierlich angereichert wurden und dabei in feste Medien diffundierbar waren. Bei vergleichsweise geringem Materialaufwand war auch die Durchführung wenig problematisch. Das gleiche galt für die Auswertung, wobei eine Abstufung in 'deutliche bis totale Hemmung' (++), 'mäßige, aber erkennbare Hemmung' (+), 'keine Hemmung' (-) und 'Stimulierung' (S) ausreichend erschien. Durch Variierung von Nährbodenzusätzen, sowie von Bebrütungsarten wären weitere Beeinflussungsfaktoren relativ einfach zu prüfen. Die Anwendung des "Agar-Querstrich-Tests" wurde in der Literatur bei JENNINGS & SHARP (1947), GARDNER (1950) und PARKER & SIMMONS (1959), sowie in neuerer Zeit bei KAFEL & AYRES (1969) beschrieben. Im Prinzip lassen sich auch andere Testmethoden, wie sie im Kapitel "Material und Methodik" aufgeführt wurden, mit dem "Agar-Querstrich-Test" vergleichen, sofern Effektor- und Reagenten-Stämme zeitlich getrennt aufgebracht werden.

Demgegenüber war beim "Quantitativen Plattentest", der als Ersatz für den zeit- und materialaufwendigen Suspensionstest gedacht war, mit weit mehr methodischen Fehlern zu rechnen. Dies gilt insbesondere für Fehler beim Auftropfen und Ausplattieren und schließlich für Fehler bei der Auswertung der Platten.

PARKER & SIMMONS (1959) und BARROW (1963) zeigten auf, daß Hemmwirkungen auf Grund antibiotischer Metaboliten bei simultanen Kultivierungsmethoden nur dann auftreten können, wenn es sich dabei um sehr schnell gebildete und/oder stark wirksame Substanzen handelt. Wohl sind im "Quantitativen Plattentest" antagonistische Wirkungen von Stoffwechselprodukten nicht völlig auszuschließen, doch ist in erster Linie an nährstoff- und raumbedingte kompetitive Wirkungsmechanismen zu denken. Daß Metaboliten eine Hemmwirkung erst bei einem ausreichenden zeitlichen Kultivierungsvorsprung erlangen, wurde nämlich schon von FREDERICQ (1948 c), SMARDA (1965), KEENE (1966), MACH & SEDLÁK (1967) und JESAITIS & HUTTON (1963) erwähnt.

Es liegt daher nahe, die festgestellten Abnahmen im "Quantitativen Plattentest" mit großer Wahrscheinlichkeit auf das kompetitive Wachstum zurückzuführen.

Geht man in diesem Plattentest von der Annahme aus, daß auf einer frisch beimpften Platte zwei verschiedene Einzelkeime unmittelbar nebeneinander zu liegen kommen, so lassen sich auf Grund der Nährstoffansprüche folgende Auswirkungen denken:

Eine gegenseitige Wachstumsbeeinflussung findet nicht statt, weil die benötigten Substrate in ausreichender Menge vorliegen oder weil beide Stammformen an die vorhandenen Nährstoffe unterschiedliche Ansprüche stellen - oder, positiv formuliert, eine Beeinflussung eines oder beider Keime tritt dann ein, wenn die notwendigen Nährstoffe nicht in ausreichendem Maße vorliegen oder wenn beide Keime die gleichen speziellen Nährbodenansprüche stellen.

Eine solche Beeinflussung kann vollständig sein,

so daß die Zahl der angewachsenen Kolonien reduziert ist. Sie kann aber auch abgestuft sein, was zu kleineren Kolonien oder nur zu mikroskopisch sichtbaren Veränderungen führen würde. Diese sind aber im "Quantitativen Plattentest" nicht oder nur ungenügend erfaßbar.

Das entscheidende Kriterium im "Quantitativen Plattentest" war daher die Anzahl der zu Kolonien ausgewachsenen Zellen der beiden Keimarten im Vergleich zum unbeeinflussten Wachstum auf den Kontrollplatten. Wesentliche Voraussetzung für die Beurteilung war eine Ermittlung der Fehlergrenze dieser Methode. Auf Grund einer besonderen Vergleichsuntersuchung (vgl. Tabelle 8) konnte ein Fehlerbereich ('range') von 16 % ermittelt werden. Dieser beinhaltet zwar eine Abweichung vom Mittelwert von nur $\pm 8\%$, doch wurden aus Sicherheitsgründen bei der Auswertung der Versuche erst Abnahmen von 20 % und mehr als wesentlich angesehen, während Werte zwischen 10 und 20 % nur dann Berücksichtigung fanden, wenn sie im Rahmen eines art- oder stammspezifischen Verhaltens wahrscheinlich erschienen. Als unbedingte Voraussetzung für aussagekräftige Keimzahlbestimmungen wurde dabei davon ausgegangen, daß zumindestens jeweils 3 Platten je Verdünnungsstufe parallel angelegt wurden und die Kontrollwerte durch Mehrfachkultivierung als gesichert anzusehen waren.

Hinsichtlich der Auswertung ergab sich beim "Quantitativen Plattentest" noch die Frage, in welchem Maße die Anwachsrate einer Reinkultur durch die Populationsdichte auf den Nährböden beeinflußt wird und bei welcher Populationsdichte der Ablauf kompetitiver Wirkungsmechanismen innerhalb von 24 Stunden am besten ablesbar ist. Hier könnte auf Grund der vorangegangenen Vergleichsversuche eine Beeinträchtigung innerhalb des zur Auswertung gelangenden Keimzahlbereiches (20 - 400) ausgeschlossen werden. Voraussetzung war, daß die Inocula möglichst gleichmäßig auf der verfügbaren Nährbodenfläche ausgespatelt worden waren und damit weitgehend gleiche Bedingungen für alle Zellen gegeben waren.

In der Literatur finden sich keine Hinweise auf entsprechende Untersuchungen. Kompetitive Wirkungsabläufe wurden allenfalls dadurch aufgedeckt, daß durch Zusatz frischer Nährsubstrate eine zunächst bestehende Hemmwirkung kompensiert werden konnte (HIRSCH, 1951; FRETER, 1962; HENTGES & FRETER, 1962; DiGIACINTO & FRAZIER, 1966).

Auch beim "Suspensionstest" war mit verschiedenen methodischen Fehlern zu rechnen, die sich im wesentlichen aus Pipettier- und Plattenfehlern zusammensetzten. Dabei brachten die im Rahmen der Verlaufsuntersuchungen notwendig werdenden regelmäßigen Keimzahlbestimmungen die Gefahr mit sich, daß vor allem bei der Auswertung längerer Verdünnungsreihen die Verdünnungsfehler sich potenzieren können.

Im "Suspensionstest" wurden nicht nur momentane Anwachsprozesse qualitativer oder quantitativer Art erfaßt, sondern Wachstumsabläufe und Umschichtungsprozesse. Insofern ließen sich bei regelmäßigen Beobachtungen über einen längeren Zeitraum hinweg Aussagen sowohl hinsichtlich nährstoff- und raumbedingter kompetitiver Wirkungsmechanismen, als auch hinsichtlich entstehender und in die Vermehrungsabläufe eingreifender Stoffwechselprodukte im weitesten Sinne treffen. Dabei war es günstig, daß solche Suspensionsversuche auf die vorausgegangenen Arbeiten mit den oben angeführten Plattentest-Methoden aufbauen konnten und die Frage nach den verantwortlichen Wirkungsmechanismen dadurch geklärt werden konnte.

Zu den im "Agar-Querstrich-Test" ermittelten Ergebnissen wäre bei einem Vergleich mit der entsprechenden Literatur folgendes zu sagen:

Die festgestellten Hemmwirkungen der Staphylokokken auf Enterobacteriaceae wurden in der Literatur bislang nicht beschrieben (BARROW, 1963; GRUMBACH, 1965; HSU & WISEMAN, 1967; POPOVICI et al., 1968). Auch die Beeinflussbarkeit von 3 der 4 Bacillus-Species steht im

Widerspruch zu Literaturangaben (FREDERICQ, 1946; BARROW, 1963; HSU & WISEMAN, 1967; POPOVICI et al., 1968). Dabei waren diese Ergebnisse zu reproduzieren. Als Erklärung wäre anzuführen, daß ein genügend langer Kultivierungsvorsprung bestand und somit genügend wirksame Substanzen gebildet werden konnten, was auch schon von POPOVICI et al. als wesentlich erwähnt wurde.

Enterobacteriaceae wirkten sich nur gelegentlich wachstumsbeeinflussend auf andere Mikroorganismen aus. Dabei konnten die Befunde von WYNNE (1947), BOWLING & WYNNE (1951) und WYNNE & NORMAN (1953) hinsichtlich einer Wirkung auf Bazillen bestätigt werden. Hinweise auf Metaboliten als mögliche Ursache finden sich nur bei WYNNE & NORMAN. Die Klärung der Frage, ob diese Wirkungen mit denen der innerhalb der Gruppe der Enterobacteriaceae wirksamen colicinen Substanzen identisch sein können, bedarf weiterer Untersuchungen.

Die beobachteten Aktivitäten der Enterokokken gegenüber Staphylokokken, Enterobacteriaceae und Bazillen bestätigen weitgehend die Ergebnisse von OBERHOFER & FRAZIER (1961), BRANDIS & BRANDIS (1962), BROCK et al. (1963), KAO & FRAZIER (1966), McCOY & FABER (1966), VANDERZANT (1968), KAFEL & AYRES (1969) und KALMANSON et al. (1970). Neben anderen Beeinflussungsfaktoren (Medium, Temperatur, Keimzahlverhältnis) wurden von diesen Autoren zumeist antibiotische Stoffe als Ursachen angenommen.

Zu den Hemmwirkungen der Pseudomonas-Stämme liegen in der Literatur widersprüchliche Angaben vor. So beschrieben OBLINGER & KRAFT (1970) eine deutliche Beeinträchtigung verschiedener Keimgruppen durch diese Stammformen, während LOTT (1971) dies verneinte. Entsprechend den von SEMINIANO & FRAZIER (1966) innerhalb der ersten 8 - 24 Stunden durchgeführten Untersuchungen ist bei diesen Species nur eine kurzfristige Wirksamkeit in Betracht zu ziehen.

Die Wirkung der Bazillen auf Staphylokokken entspricht weitgehend den Erkenntnissen von FREDERICQ

(1946), GRATIA & THIBAUT (1947), OBERHOFER & FRAZIER (1961) und TROLLER & FRAZIER (1963 a, b). Auch die nur sehr mäßige Wirkung auf gramnegative Arten wurde schon von IVÁNOVICS & ALFÖLDI (1954) und IVÁNOVICS et al. (1955) beschrieben.

Im "Agar-Querstrich-Test" wurden aber auch Einflüsse untersucht, die Stämme gleicher Keimgruppen aufeinander ausübten. Besonders deutlich waren hierbei Hemmwirkungen innerhalb der Gruppe der Enterobacteriaceae. Diese Befunde stimmen mit den bei BRANDIS & SMARDA (1971) referierten Berichten zahlreicher Autoren überein, die solche Effekte der Wirkung "coliciner" Substanzen zuschrieben, d.h. solchen Substanzen, die primär Stämme der eigenen Species unterdrücken, aber auch innerhalb der gesamten Gruppe der Enterobacteriaceae antagonistisch wirksam sind. Auch die von MARESZ-BABCZYNSCYN et al. (1967) beobachtete weitaus geringere Empfindlichkeit von Klebs. aerogenes konnte bestätigt werden.

Die geringfügigen Beeinflussungen der Staphylokokken untereinander wurden schon von FREDERICQ (1946), JENNINGS & SHARP (1947), PARKER & SIMMONS (1959), BARROW (1963) und HSU & WISEMAN (1967) angeführt, wobei bacteriocin-ähnliche Substanzen als Ursachen genannt wurden.

Ähnliche Substanzen, nämlich sogenannte "Enterocine", führten nach KJEMS (1955), BRANDIS & BRANDIS (1962, 1963), BROCK et al. (1963), BRANDIS et al. (1965) und TZANNETIS et al. (1970) zu gegenseitigen Beeinträchtigungen unter den Enterokokken.

Eine Hemmwirkung von Ps. fluorescens auf andere Pseudomonaden wurde bereits von OBLINGER & KRAFT (1970) zitiert. Hinsichtlich der fehlenden Wirkungen von Ps. aeruginosa auf Ps. fluorescens konnten die Angaben von HAMAMURA (1962), COLES & GILBO (1967) und LOTT (1971) bestätigt werden.

Zu den Beeinflussungen von Bazillen untereinander liegen in der Literatur keine vergleichbaren Berichte vor.

Vergleichend läßt sich zu den im "Quantitativen Plattentest" ermittelten Ergebnissen folgendes sagen:

Enterobacteriaceae zeigten bei diesen Versuchen häufig deutlich ausgeprägte Hemmwirkungen gegenüber der Mehrzahl der Staphylokokken- und Bazillenspecies, sowie gegenüber einigen Enterokokken. Dies entspricht weitgehend den Befunden von WYNNE (1947), BOWLING & WYNNE (1951), BLACKFORD et al. (1951), COOK et al. (1953), WYNNE & NORMAN (1953), OBERHOFER & FRAZIER (1961), McCOY & FABER (1966) und VANDERZANT (1968), die allerdings mit Methoden gewonnen wurden, die dem "Agar-Querstrich-Test" ähnlich waren. Bezüglich der Wirkungsweise wurden zumeist antibiotische Substanzen angenommen. Aber auch das Mitwirken kompetitiver Faktoren wurde für diese Mikroorganismen in der Literatur beschrieben, allerdings auf Grund von Suspensionsversuchen (DiGIACINTO & FRAZIER, 1966).

Weiterhin waren bei Sc. faecalis var. liquefaciens und Bac. cereus deutliche Reaktionen gegenüber Staph. aureus-Stämmen zu erkennen, was auch von FREDERICQ (1946), GRATIA & THIBAUT (1947), OBERHOFER & FRAZIER (1961), TROLLER & FRAZIER (1963 a), McCOY & FABER (1966) und VANDERZANT (1968) festgestellt worden war. Auch bei diesen Autoren finden sich Hinweise auf antagonistische Stoffwechselprodukte.

Bei den Clostridien-Species fiel besonders die Beeinflussung durch Bazillen auf, wozu sich in der Literatur keine entsprechenden Hinweise finden. Andererseits beschrieben SASARMAN & ANTOHI (1969) eine Wachstumsunterdrückung von Bac. cereus durch Cl. perfringens-Stämme. Zur Klärung dieser gerade für die Lebensmittelhygiene wesentlichen Frage müßten weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

In diesem Zusammenhang sei noch auf das Auftreten makroskopisch sichtbarer Veränderungen im Rahmen des "Quantitativen Plattentests" bei Staph. aureus-Species, insbesondere auf die durch Sc. faecium var. durans und

Bac. subtilis hervorgerufenen und auch reproduzierbaren Ausbildungen von Tochterkolonien bei längerer Bebrütungs-
dauer hingewiesen. Die Frage, inwieweit dafür mögliche
Wuchsstoffe oder auch fehlende essentielle Substanzen,
wie die bei TROLLER & FRAZIER zitierten Aminosäuren, ver-
antwortlich sind, müßte weiter verfolgt werden. In der
ausgewerteten Literatur sind solche Befunde bislang nicht
beschrieben worden.

Eine deutliche und gruppenspezifisch einheit-
liche Hemmwirkung in beiden Plattentest-Methoden besaßen
Staphylokokken, Enterokokken und Enterobacteriaceae ge-
genüber den beiden *Pseudomonas*-Stammformen. Eine solche
Wirkung wurde hinsichtlich der Staphylokokken in der Li-
teratur bislang verneint (BARROW, 1963; HSU & WISEMAN,
1967; POPOVICI et al., 1968), während für Enterokokken
und Enterobacteriaceae keine vergleichbaren Untersuchun-
gen beschrieben wurden. Demnach scheinen *Pseudomonas*-
Arten wesentlich empfindlicher zu sein als andere Keim-
gruppen, was auch den Beobachtungen von REUTER (1972)
gegenüber Milchsäurebakterien entsprechen würde.

Zu den im "Suspensionstest" ermittelten Ergeb-
nissen wäre folgendes zu sagen:

Die nur geringe Beeinflußbarkeit von Klebs.
aerogenes entspricht den auch auf festen Nährböden fest-
gestellten Befunden. Die vermehrte Hemmung durch alle
Prüfstämme bei 4-6 °C läßt sich damit erklären, daß hier
die untere Wachstumsgrenztemperatur annähernd erreicht
worden ist (OBERHOFER & FRAZIER, 1961; KAO & FRAZIER,
1966). HAINES (1934) stellte für *A. aerogenes* noch bei
5 °C Wachstum fest, nicht mehr jedoch bei 0 °C. Allerdings
wurde über die Intensität des Wachstums bei 5 °C nichts
ausgesagt, so daß ein stark vermindertes Wachstum ange-
nommen werden kann. Weitere Werte für die untere Wachs-
tumsgrenze coliformer Keime in Lebensmitteln liegen e-
benfalls bei etwa 4-5 °C (MICHENER & ELLIOTT, 1964).

Die nur geringfügige hemmende Wirkung von

Staph. aureus gegenüber den untersuchten Species stimmt mit den im "Quantitativen Plattentest" gemachten Beobachtungen überein.

Am auffallendsten war die deutliche und einheitliche Unterdrückung von Sc. faecium var. durans bei 4 - 6 °C und 10 - 12 °C durch alle Prüfstämme. Sicherlich sind hier gleichfalls kultivierungsbedingte Abhängigkeiten, insbesondere hinsichtlich der bereits erwähnten Wachstumsgrenztemperaturen, zu berücksichtigen. Bei KE-RELUK & GUNDERSON (1959) wird dafür in Kulturmedien für Enterokokken ein Wert von 5 °C angegeben. Da ein Wachstumsablauf nicht abrupt endet, sondern kontinuierlich abnimmt, ist die von mir gefundene abgestufte Wirksamkeit erklärlich.

Ps. fluorescens war im unteren Temperaturbereich gleichermaßen empfindlich. Das war bei diesem als psychrotroph bekannten Keim an sich nicht erwartet worden, entspricht aber andererseits dem bereits mehrfach beobachteten Umstand, daß es sich hier um einen besonders empfindlichen Stamm handelt.

Die regelmäßige, wenn auch unterschiedlich starke Beeinträchtigung von Bac. cereus korreliert mit den Resultaten des "Agar-Querstrich-Tests".

Stimulierende Wirkungen wurden in mehr oder weniger großem Umfang in allen Versuchsreihen ermittelt. Dabei sollen allerdings solche Befunde unberücksichtigt bleiben, die möglicherweise auf methodischen Fehlern beruhen, wie dies im "Quantitativen Plattentest" anzunehmen ist.

Im "Agar-Querstrich-Test" wurden in einigen Fällen sehr deutliche und verhältnismäßig einheitliche wachstumsfördernde Einflüsse beobachtet. Dies betraf die Enterobacteriaceae-Species Hafnia, Enterobact. cloacae und Providencia, sowie Bac. cereus. Derartige Befunde wurden bislang nur vereinzelt erwähnt. So beschrieben SWARTLING & LINDGREN (1963) die Stimulierung von Clostridien und anderen Buttersäurebildnern durch Keime der

Coli-Aerogenes-Gruppe, GRAVES & FRAZIER (1963) eine solche von *Staph. aureus* durch einige Enterobacteriaceae, und MCCOY & FABER (1966) beobachteten eine Wachstumsförderung eines *Staph. aureus*-Stammes durch *Bac. cereus*. In keinem Fall wurden bisher Erklärungen für solche Reaktionen angeführt. Allerdings wiesen TROLLER & FRAZIER (1963b) darauf hin, daß stimulierende Effekte, die auf Nährbodenplatten auftraten, in flüssigen Medien sehr oft fehlten oder sich sogar in Form von Hemmwirkungen manifestierten. Eine solche Divergenz könnte möglicherweise damit erklärt werden, daß bei Kultivierung auf Platten die einzelnen Zellen den Sauerstoff aus der Umgebung leichter aufnehmen können, als dies in der Suspension der Fall ist.

Die Frage, ob durch gebildete Wuchsstoffe synergistische Wirkungen induziert werden, bedarf genauerer Untersuchungen.

Zur Bedeutung dieser Untersuchungen für die praktische Lebensmittelhygiene wäre folgendes auszuführen:

Hier muß zunächst darauf hingewiesen werden, daß die Mehrzahl der überprüften Mikroorganismen als in Lebensmitteln mehr oder weniger unerwünscht anzusehen ist. Dies gilt insbesondere für die spezifischen Lebensmittelvergifter, wie Salmonellen und *Cl. botulinum* (SEIDEL & MUSCHTER, 1967; HOBBS, 1968; FEY, 1968; RIEMANN, 1969; DACK, 1969; SEELIGER, 1970; MOSSEL, 1970). Auch die Staphylokokken haben in dieser Hinsicht in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Während COCKBURN (1962) nur bei 2-3% der in England und Wales untersuchten Fälle Staphylokokken als Erkrankungsursache vermutete, kamen sowohl DACK (1963) für die USA, als auch VESELOV (1970) für die UdSSR zu weit höheren Quoten (bis 42%). Neuere Zusammenstellungen über die Rolle der Staphylokokken in Lebensmitteln liegen von LOTT (1970), SEELIGER (1970), UNTERMANN & SINELL (1970) und UNTERMANN (1971) vor.

Bei den sogenannten "unspezifischen Lebensmittelvergiftungen" ist weder über den genauen Wirkungsmechanismus noch über die Zahl der Erkrankungen genügend bekannt. Um-

fassende Literaturübersichten wurden von DACK (1969) und RIEMANN (1969) zusammengestellt. Neuere Berichte über Einzelfälle liegen vor für Enterokokken von ALTERANGE (1969) und JÁNOSSY (1969), für *Bac. cereus* (MIDURA et al., 1970; PIVOVAROV et al., 1970; LUDWIG, 1971) und für *Cl. perfringens* (HELSTADT et al., 1967; HALL, 1969; DÖLL et al., 1970; DUNCAN, 1970; BAUMGART et al., 1971). Dabei wurden fast regelmäßig die von THATCHER & CLARK (1968) für Erkrankungen durch unspezifische Lebensmittelvergifter als notwendig angesehenen hohen Keimzahlen (10^5 - 10^7 /g und mehr), sowie das Vorliegen dieser Erreger in Reinkulturen oder zumindestens als überwiegender Anteil der Mikroflora bestätigt.

Um die lebensmittelhygienische Bedeutung der geprüften Mikroorganismen richtig werten zu können, soll im folgenden kurz auch auf ihre Ökologie und Physiologie eingegangen werden:

Enterotoxinbildende Staphylokokken sind vor allem in Pökelwaren und vorverpacktem Bacon, sowie seltener in Hackfleisch und Brüh- und Kochwürsten zu erwarten (SINELL & BAUMGART, 1966; REUTER, 1970 b; INGRAM & DAINITY, 1971). Übereinstimmend wird dabei betont, daß zur Bildung ausreichender Enterotoxinmengen Keimzahlen von 10^6 /g und mehr nötig sind (TROLLER & FRAZIER, 1963 a; DIGIACINTO & FRAZIER, 1966; INGRAM, 1971). Solche Keimzahlbereiche können die Staphylokokken jedoch nur dann erreichen, wenn die konkurrierende, teilweise hemmend wirkende Begleitflora fehlt (z.B. durch eine Hitzebehandlung) oder diese auf Grund besonderer, die Staphylokokken begünstigender Wachstumsbedingungen, wie hoher Salz- und Nitratgehalt, verringerter a_w -Wert, selektiv wirksame Hemmstoffe, unterdrückt wird (INGRAM, 1955; EDDY & INGRAM, 1962; CAVETT, 1962; TONGE et al., 1964; LOTT, 1970; SEELIGER, 1970; LEISTNER, 1971; INGRAM & DAINITY, 1971).

Enterobacteriaceae, insbesondere aus der Enterobacter-Klebsiella-Gruppe, treten überwiegend in solchen Erzeugnissen auf, die nicht oder nur ungenü-

gend sterilisiert oder nachträglich kontaminiert wurden. Dabei muß auch die schon von SPLITTSTOESSER & WETTERGREEN (1964) beobachtete und in den hier beschriebenen Versuchen bestätigte geringe Beeinflußbarkeit dieser Stammformen durch die Mehrzahl der anderen Mikroorganismen in Betracht gezogen werden. Daß außerdem die von REUTER et al. (1968) in Rohwürsten ermittelten Hemmwirkungen von Milchsäurebakterien nicht bei allen Produkten zu erwarten sind, stellte REUTER (1970 b) bei vorverpackten Koch- und Brühwürsten fest und führte dies auf unterschiedliche Substratzusammensetzungen zurück. Andererseits kann das Entstehen hoher Enterobacteriaceae-Keimzahlen durch niedrige Temperaturen (GARDNER et al., 1967; REUTER, 1970 b; KNI EWALLNER & PRÄNDL, 1971) oder durch Pökellung oder Säuerung (INGRAM & DAINITY, 1971) vermieden werden. Aus der Gruppe der Enterobacteriaceae spielen die Salmonellen auch bei niedrigen Keimzahlen eine Rolle. Selbst bei Rohwürsten wurde eine sehr lange Haltbarkeit ermittelt, wobei über den Einfluß von Abtrocknungsgrad, Räucherprozeß, a_w - und pH-Wert auf ihre Überlebensfähigkeit unterschiedliche Ansichten bestehen (ORTMANN, 1967; SCHEIBNER, 1969; SCHERNER & STIER, 1970; TAKÁCS & SIMONFFY, 1970).

Hohe Enterokokken-Keimzahlen (APHA, 1963; HARTMAN et al., 1965) können durch höhere Kochsalzkonzentrationen (INGRAM, 1955; EDDY & INGRAM, 1962; CAVETT, 1962; TONGE et al., 1964) oder ein sinkendes Redox-Potential (INGRAM & DAINITY, 1971) vermieden werden. Auf der anderen Seite sind die relativ hohe Resistenz gegenüber Pökelfstoffen (INGRAM, 1955; KAFEL & MAJEWSKA, 1961; KAFEL & AYRES, 1969) und gegenüber niedrigen Temperaturen (KAFEL & MAJEWSKA, 1961; IENISTEA & PLECEAS, 1967; PUSZTAI & IVANOVITS, 1970; REY et al., 1970) ebenso wie die nur mäßige Empfindlichkeit gegenüber anderen Mikroorganismen zu berücksichtigen.

Keime der Aeromonas-Pseudomonas-Gruppe treten in höheren Keimzahlen fast ausschließlich bei solchen Erzeugnissen auf, die bei Temperaturen unter 10 °C gelagert werden (AYRES, 1963; DEMIRA et al., 1967; INGRAM &

DAINTY, 1971). Dagegen werden bei höheren Temperaturen besorgniserregende Zunahmen psychrophiler Keime durch andere Mikroorganismen verhindert. Solche Hemmwirkungen durch Laktobazillen beschrieb REUTER (1972), und in dieser Arbeit konnten sie für eine Reihe anderer Keimgruppen ermittelt werden. Andere Faktoren, wie Hitzebehandlung, Pökelfstoffe, Säuerung, Kochsalz-, CO_2 - und Sauerstoffgehalt wirken ähnlich (GARDNER et al., 1967; STRINGER et al., 1969; REY et al., 1970).

Sporenbildner sind immer wieder, insbesondere in Halbkonserven, nachgewiesen worden (SKOVGARD, 1959; WESSELINOFF et al., 1969; KAFEL & AYRES, 1969), wobei HAUKE (1961) und SCHREIBNER (1967) darauf hinwiesen, daß bei Sterilisierungstemperaturen von 98 - 103 °C nicht alle Sporen abgetötet sein müssen. Beeinflussungen dieser Keime im Lebensmittel selbst wurden von KAFEL & AYRES (1969) untersucht. Sie fanden eine deutliche Abnahme von Bacillus- und Clostridium-Arten in solchen Dosenschinken, die hohe Enterokokkenzahlen aufwiesen.

Die Möglichkeit, unbedenkliche Mikroorganismen technologisch zur Unterdrückung unerwünschter Erreger zu verwenden, wie dies von RIEMANN (1969) angeführt und für einige Keimgruppen, insbesondere Laktobazillen (REUTER, 1970 a, 1972 a) und Mikrokokken (NIINIVAARA, 1957; REUTER, 1972 a) beschrieben wurde, wird für die geprüften Mikroorganismen nicht in Betracht zu ziehen sein, da keiner dieser Keime als dominierender Floraanteil in einem Lebensmittel toleriert werden kann. Ausnahmen können Enterokokken darstellen, die man zuweilen als Starterkulturen einzusetzen versucht.

Die Kenntnis mikrobiocoenotischer Prozesse soll nach REUTER (1972) dazu dienen, sowohl die in einem stark keimhaltigen Lebensmittel abgelaufenen Keimfloraentwicklungen retrospektiv zu beurteilen, als auch gegebenenfalls Aussagen über potentielle

Entwicklungen einer in ihrer Zusammensetzung bekannten oder feststellbaren Mikroflora eines Lebensmittels zu treffen. Im ersten Fall lassen sich auf Grund der qualitativen und quantitativen Analyse der Mikroflora eines Lebensmittels zum Zeitpunkt der Untersuchung sowie bekannter Behandlungskriterien (Herstellung, Lagerung, Zubereitung, Verzehr) abgelaufene Entwicklungsvorgänge einigermaßen rekonstruieren. Darüber hinaus sind Voraussagen über potentielle Entwicklungen bei bekannter Zusammensetzung von Biotop und Mikroflora in beschränktem Umfang möglich. Als weitere Faktoren müssen dabei vor allem Lagerungstemperatur und -dauer, sowie a_w - und pH-Wert-Veränderungen berücksichtigt werden. Auch bei PRÄNDL et al. (1969) wird auf die Wichtigkeit dieser Faktoren hingewiesen und INGRAM (1960) und BÉGANČVIČ & MATIČ (1966) zeigten auf, daß bei unterschiedlichen Lagerungstemperaturen trotz gleichen Endkeimgehaltes die Struktur einer Mikroflora sehr stark voneinander abweichen kann.

D. Schlußfolgerungen

Mit dem "Agar-Querstrich-Test" und dem "Quantitativen Plattentest" ist eine Erfassung mikrobiocoenotischer Prozesse möglich.

Im "Agar-Querstrich-Test" ermittelte Resultate weisen vornehmlich auf das Vorliegen hemmend oder stimulierend wirkender Stoffwechselprodukte hin, während im "Quantitativen Plattentest" gewonnene Ergebnisse mit großer Wahrscheinlichkeit überwiegend kompetitive Wirkungsmechanismen aufzeigen. Übereinstimmende Ergebnisse bei beiden Testmethoden sprechen für das Vorliegen sowohl einer Metabolitenwirkung wie auch kompetitiver Einflüsse.

Der "Suspensionstest" erscheint günstig für

die Untersuchung von Entwicklungsabläufen über längere Zeiträume, sowie für die Überprüfung weiterer Beeinflussungsfaktoren, insbesondere solcher, die sich aus der Zusammensetzung des Substrates sowie aus den Umweltbedingungen ergeben. Der Einsatz eines funktionsfähigen Biocoenose-Simulators würde eine wesentliche Arbeitserleichterung darstellen.

Aus den eigenen Ergebnissen und den Daten der Literatur läßt sich eine unterschiedliche Beeinflußbarkeit der einzelnen Keimarten oder -gruppen ableiten. Besonders empfindlich scheinen Species aus der *Pseudomonas*-Gruppe zu sein, und zwar sowohl im kompetitiven Wachstum als auch gegenüber wachstumshemmenden Metaboliten aus dem Stoffwechsel anderer Bakterien. Ähnlich empfindlich gegenüber kompetitiven Wachstumseinflüssen sind die Bazillen, insbesondere *Bac. cereus*. Eine Unterdrückung von *Cl. perfringens* durch Bazillen erscheint bemerkenswert, müßte aber noch durch weitere Versuche bestätigt werden. *Enterobacteriaceae* und *Enterokokken* sind unter den hier angewandten optimalen Wachstumsbedingungen weitgehend unempfindlich gegen die geprüften anderen Bakterien. *Staph. aureus*-Stämme zeigen offensichtlich nur gegenüber *Enterobacteriaceae* eine ausgeprägte Empfindlichkeit, die jedoch weniger durch antibiotische Stoffwechselprodukte als vielmehr durch kompetitive Wachstumsvorgänge bedingt zu sein scheint. Außerdem bestehen bei *Staph. aureus* stammabhängige Unterschiede in der Empfindlichkeit.

Bei der Übertragung dieser Erkenntnisse auf mikrobiocoenotische Prozesse in Lebensmitteln ist zu berücksichtigen, daß bei den Versuchen möglichst ausgeglichene Keimzahlverhältnisse und optimale Wachstumsbedingungen für jeweils beide Mikroorganismen vorlagen. Die im natürlichen Biotop meist unterschiedlichen Ausgangskeimzahlen und zusätzlichen Beeinflussungsfaktoren, wie veränderte a_w - und pH-Werte sowie

besondere Substratzusammensetzungen und Lagerungsbedingungen wirken sich zusätzlich auf die Mikrobiocenose aus.

Zusammenfassung

Mit drei verschiedenen Methoden wurden insgesamt 34 Stämme, und zwar 15 Enterobacteriaceae-, 4 Staphylokokken-, 5 Enterokokken-, 4 Bazillen-, 3 *C. perfringens*-, 1 *Aeromonas*- und 2 *Pseudomonas*-Stämme auf gegenseitige Wachstumsbeeinflussungen unter für beide Teile weitgehend optimalen Bedingungen geprüft.

Der "Agar-Querstrich-Test" ermöglichte einen empfindlichen und auch praktikablen semi-quantitativen Nachweis antagonistischer und synergistischer Beeinflussungen. Als Ursache dieser Wirkungen sind angereicherte Stoffwechselprodukte anzunehmen, die auf Grund eines 18 - 20stündigen Kultivierungsvorsprungs wirksam wurden.

Mit einem "Quantitativen Plattentest" konnten Beeinflussungen der Anwachsrate von Mischsuspensionen aus jeweils 2 Keimarten erfaßt werden. Als Ursache sind vor allem nährstoff- und/oder raumbedingte kompetitive Wirkungsmechanismen zu vermuten. Jedoch ist auch eine Wirkung von Metaboliten nicht auszuschließen, worauf besonders die Befunde an den *Pseudomonas*-Stämmen hinweisen.

Im "Suspensionstest" wurden Verlaufsuntersuchungen über einen Zeitraum von 6 - 8 Tagen bei verschiedenen Temperaturen (4 - 6 °C, 10 - 12 °C, 20 - 22 °C) durchgeführt. Dabei sollten vor allem zeit- und temperaturabhängige Veränderungen geprüft werden. Vollstän-

dige Unterdrückungen waren dabei nicht zu beobachten, doch kam es teilweise zu bemerkenswerten zahlenmäßigen Verschiebungen.

Für die einzelnen Keimarten und -gruppen konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden:

Pseudomonas fluorescens und *Pseudomonas aeruginosa* wurden bei allen Prüfverfahren durch die Mehrzahl der geprüften Keimarten deutlich beeinflusst.

3 der 4 *Bacillus*-Arten zeigten bei simultaner Kultivierung eine ausgeprägte Wachstumsbeeinflussung, wobei *Bacillus cereus* am empfindlichsten reagierte. Die stärkste Wirkung übten dabei die Salmonellen sowie coliforme Keime aus. *Bacillus subtilis* wurde nur vereinzelt beeinträchtigt.

Clostridium perfringens wurde durch Bazillen deutlich gehemmt.

Staphylococcus aureus-Stämme zeigten im "Quantitativen Plattentest" eine ausgeprägte Empfindlichkeit insbesondere gegenüber den Enterobacteriaceae. Dabei traten aber stammabhängige Unterschiede auf.

Enterobacteriaceae-Species wurden kaum gehemmt. Nur bei einer Vorkultivierung vermochten Staphylokokken, Enterokokken und *Pseudomonas fluorescens* eine Hemmwirkung auszuüben. Bei einer Vorkultivierung beeinflussten sich die meisten Enterobacteriaceae-Stämme auch untereinander. *Klebsiella aerogenes* erwies sich bei allen Tests als am wenigsten empfindlich.

Enterokokken wurden insgesamt wenig beeinflusst, wobei nur durch *Klebsiella aerogenes* eine stärkere Reduzierung erfolgte.

Wachstumsfördernde Effekte zeigten, insbesondere im "Agar-Querstrich-Test", *Enterobacter cloacae*, *Hafnia* und *Providencia* sowie *Bacillus cereus*.

Die ermittelten Ergebnisse können als Grundlage für weitere Untersuchungen mikrobiocoenotischer Vorgänge unter Berücksichtigung zusätzlicher Beeinflussungsfaktoren dienen. Außerdem können sie bereits jetzt bei sachgemäßer Interpretation die Bewertung mikrobiologischer Befunde bei der Lebensmitteluntersuchung erleichtern.

Literaturverzeichnis

ABBOTT, J.D. - SHANNON, R.

A method for typing *Shigella sonnei* using colicine production as a marker

J. clin. Path. 11, 71-77 (1958)

ALFORT, J.A. - PALUMBO, S.A.

Interaction of salt, pH and temperature on the growth and survival of salmonellae in ground pork

Appl. Microbiol. 17, 528 (1969)

ALTERAUGE, W.

Streptokokken als Ursache einer unspezifischen Lebensmittelvergiftung

Arch. Lebensmittelhyg. 20, 154-155 (1969)

A P H A (American Public Health Association)

Bacteriological food poisoning

in: Diagnostic procedures and reagents, 4. Ausg. Americ. Publ. Health Assoc., 1963, pp. 330-332

AVERY - DUBOS

(zit. nach ETINGER-TULCZYNSKA, 1932)

J. exp. Med. 54, 51 (1931)

AYRES, J.C.

Low temperature organisms as indexes of quality of fresh meat

in: "Microbiological Quality of Foods"
Edit.: Slanetz - Chichester - Gaufin - Ordal
Verlag Acad. Press, New York - London, 1963

BABÈS, V.

(zit. nach JENNINGS & SHARP, 1947)

J. Conn. Méd. Prat. Paris 7, 321 (1885)

BAILL, O.

Ergebnisse experimenteller Populationsforschung

Z. Immunitätsforschung 60, 1-22 (1929)

BAIRD-PARKER, A.C. - FREAME, B.

Combined effect of water activity, pH and temperature on the growth of *Cl. botulinum* and vegetative cell inocula

J. appl. Bact. 30, 420-429 (1967)

- BARIBO, L.E. - FOSTER, E.M.
The production of a growth inhibitor by
lactic streptococci
J. Dairy Sci. 34, 1136 - 1144 (1951)
- BARNES, L.A.
Do broth culture filtrates contain a
bacterial growth-inhibiting substance ?
J. Bact. 21, 395 - 406 (1931)
- BARROW, G.I.
Microbial antagonism by *Staphylococcus aureus*
J. gen. Microbiol. 31, 471 (1963)
- ders.
The nature of inhibitory activity by
Staphylococcus aureus type 71
J. gen. Microbiol. 32, 255 - 261 (1963)
- BAUMGART, J. - ASAKAWA, Y. - HECHELMANN, H.
Eine durch hitzeempfindliche β -hämolytische
Cl. perfringens-Stämme (Hobbs-Typen 1 und 4)
verursachte Lebensmittelvergiftung
Arch. Lebensmittelhyg. 22, 7 - 11 (1971)
- BEERENS, H. - TAHON, M.M.
in: "Botulism 1966", Edit.: Ingram - Roberts
Verlag Chapman & Hall, London, 1970
pp. 424 - 428
- BÉGANOVIĆ, A.H. - MATIĆ, S.
Über die Haltbarkeit der Halbkonserven unter
verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen
Arch. Lebensmittelhyg. 17, 121 - 124 (1966)
- BERGER, U.
Zur Frage der antibakteriellen Wirkung
des Speichels
Z. Hyg. Infektionskrankh. 133, 371-397 (1952)
- BERNHEIMER, A.W. - PAPPENHEIMER jr., A.M.
Factor necessary for massive growth of
group A hemolytic streptococci
J. Bact. 43, 481 (1942)
- BETHGE, J. - SOEHRING, K. - TSCHESCHE, R.
Über die Rolle des Wasserstoff-Peroxyds
bei der Inhibition nach Dold
Z. Naturforsch. 2 B, 12 - 13 (1947)

BETZ, J.V. - ANDERSON, K.E.

Isolation and characterization of bacteriophages active on *Cl. sporogenes*

J. Bact. 87, 408-415 (1964)

BLACKFORD, V.L. - PARR, L.W. - ROBBINS, M.L.

Antibiotic activity of selected enteric organisms

Antibiotics and Chemotherapy 1, 392-398 (1951)

BLAIR, J.E. - CARR, J.G.

The techniques and interpretation of phage typing of staphylococci

J. Lab. Clin. Med. 55, 650 (1960)

BORDET, P.

Propriétés distinctes d'antibiotique produits par deux souches de colibacilles dont l'une dérive de l'autre

Rev. Immunol. 2, 323 (1947)

BOWLING, R.E. - WYNNE, E.S.

Studies on the mechanism of antagonism by *Aerobacter* strains

J. Infect. Dis. 89, 277-280 (1951)

BRANDIS, H. - BRANDIS, U.

Über einen bacteriocinartigen Stoff aus Enterokokken

Path. Microbiol. 25, 632-640 (1962)

dies. Auftreten und Verhalten spontaner Mutanten von Enterokokken-Stämmen mit Resistenz gegen Enterocin

Path. Microbiol. 26, 688 (1963)

BRANDIS, H. - BRANDIS, U. - van de LOO, W.

Bacteriocinähnliche Stoffe von Enterokokken

Zbl. Bakt. I Orig. 196, 331-340 (1965)

BRANDIS, H. - BRANDIS, U.

Über Lysine von Enterokokken

Zbl. Bakt. I Orig. 200, 8-12 (1966)

BRANDIS, H. - SMARDA, J.

Bacteriocine und bacteriocinähnliche Substanzen

VEB Gustav Fischer Verlag, Leipzig 1971

- BREED, R.S. - MURRAY, E.G.D. - SMITH, N.R.
Bergey's Manual of Determinative
Bacteriology, 7. Auflage
Williams & Wilkins Co., Baltimore 1957
- BROCK, Th.D. - PEACHER, B. - PIERSON, D.
Survey of the bacteriocines of enterococci
J. Bact. 86, 702 - 707 (1963)
- BROCK, Th.D. - DAVIE, J.M.
Probable identity of a group D hemolysin
with a bacteriocine
J. Bact. 86, 708 - 712 (1963)
- BRYAN, A.H.
Lactobacilli for enteric infections
Drug and Cosmetic Ind. 96, 474 - 476, 585,
588 - 589 (1965)
- BÜRGERS
(zit. nach ETINGER-TULCZYNSKA, 1932)
Klin. Wschr. p. 1666 (1930)
- BUNGAY, H.R. III - BUNGAY, M.L.
Microbial interactions in continuous culture
Adv. Appl. Microbiol. 10, 269 - 290 (1968)
- CAVETT, J.J.
The microbiology of vacuum packed sliced
bacon
J. appl. Bact. 25, 282 - 289 (1962)
- COCKBURN, W.C.
in: "Food Poisoning"
The Royal Soc. of Health, London 1962
- COLES, N.W. - GILBO, C.M.
Lysis of Staph. aureus by culture super-
natant fluids of a species of Aeromonas
J. Bact. 95, 1193 - 1194 (1967)
- CONN, H.J. - BRIGHT,
(zit. nach LEWIS, 1929)
J. Agric. Res. 16, 315 - 350 (1919)

COOK, M.K. - BLACKFORD, V.L. - ROBBINS, M.L. - PARR, L.W.

An investigation of the antibacterial spectrum of colicines

Antibiotics and Chemotherapy 3, 195-202 (1953)

CRISLEY, F.D.

Effect of sodiumchloride on growth, glucose utilization, and acid production in *Proteus vulgaris*

J. Bact. 86, 346 - 347 (1963)

DACK, G.M.

Influence of some anaerobic species on toxin of *Cl. botulinum* with special reference to *Cl. sporogenes*

J. Infect. Dis. 38, 174 - 181 (1926)

DACK, G.M. - LIPPITZ, G.

Fate of staphylococci and enteric microorganisms introduced into slurry of frozen pot pies

Appl. Microbiol. 10, 472 - 479 (1962)

DACK, G.M.

in: "Microbial Quality of Foods"
Verlag Acad. Press, New York - London, 1963

ders.

in "Food-poisoning"
Verlag: University of Chicago Press, 1969

DEIBEL, R.H. - EVANS, J.B.

Modified benzidine test for the detection of cytochrome containing respiratory systems in microorganisms

J. Bact. 79, 356 - 360 (1960)

DEMIRA, A.A. - BALANDINA, G.A. - MISCHUTSCHKOWA, L.A.

Mikrobiologische Charakteristik des gekühlten Fleisches während des Transportes mit Kühlwagen und bei der Lagerung

WNICHI Moskau, Cholodilnaja Techn. 1, 24 - 26 (1967); ref. in: SVZ 69, 156 - 157 (1969)

DIGIACINTO, J.V. - FRAZIER, W.C.

Effect of coliform and proteus bacteria on growth of *Staphylococcus aureus*

Appl. Microbiol. 14, 124 - 129 (1966)

DIMICK, K.P. et al.

Purification and some properties of subtilin

Arch. Biochem. 15, 1 - 11 (1947)

DÖLL, W. - SCHUBERT, B. - SEELIGER, H.P.R.

Eine durch *Cl. perfringens*-Lebensmittel-
vergiftung verursachte Massenerkrankung
Alimenta 9, 116 - 119 (1970)

DOZIER, C.C.

Optimum and limiting hydrogen ion concen-
tration for *B. botulinus* and quantitative
estimation of its growth

J. Infect. Dis. 35, 105 - 133 (1924)

DUJARDIN-BEAUMETZ, E.

Action antibiotique d'une variété de sta-
phylocoque à l'égard des bacilles gram-
positifs et acido-résistants

C. R. Soc. Biol. 110, 1210 - 1213 (1932)

DULISCOUET, R.

Action probiotique et antibiotique des
staphylocoques chez les porteurs de
germes diphtériques

C. R. Soc. Biol. 118, 1277 (1935)

DUNCAN, C.L.

Clostridium perfringens food poisoning

J. Milk Fd. Technol. 33, 35 - 41 (1970)

EDDY, B.P. - INGRAM, M.

The occurrence and growth of staphylococci
on packed bacon, with special reference to
Staphylococcus aureus

J. appl. Bact. 25, 237 - 247 (1962)

ELLISON, J.S. - KAUTTER, J.A.

Purification and some properties of
two boticines

J. Bact. 104, 19 (1970)

EMMERICH, R. - diMATTEI,

(zit. nach ETINGER-TULCZYNSKA, 1932)

Fortschr. Med. (1887)

EMMERICH, R. - LOEW, O.

Bakteriolytische Enzyme als Ursache der er-
worbenen Immunität und die Heilung von
Infektionskrankheiten durch dieselben

Z. Hyg. 31, 1 - 65 (1899)

ETINGER-TULCZYNSKA, R.

Über Bakterienantagonismus

Z. Hyg. Inf. 113, 762 - 780 (1932)

ders.

Superinfektion mit Bac. friedländer

Z. Hyg. Inf. 116, 72 - 80 (1934)

EWING, W.H.

Enterobacteriaceae taxonomy and nomenclature

NCDC, Atlanta Georgia, 1966

FARMILOE, F.J. et al.

The survival of Bac. subtilis spores in the baking of bread

J. Sci. Food Agric. 5, 292 - 304 (1954)

FEY, G.

Botulismus

in: "Infektionskrankheiten"

Edit.: Gsell - Mohr

Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1968

FREDERICQ, P.

Sur la spécificité des actions antibiotiques

Schwz. Zschr. Path. Bakt. 2, 385 (1946)

FREDERICQ, P. - THIBAUT, J. - GRATIA, A.

Recherches sur les propriétés antibiotiques des germes du genre Bacillus

C. R. Soc. Biol. 140, 1035 (1946)

FREDERICQ, P.

Sur la destruction des colicines par les protéases microbiennes

C. R. Soc. Biol. 142, 403 (1948 a)

ders. Apparition spontanée de mutants résistants aux colicines

C. R. Soc. Biol. 142, 853 (1948 b)

ders. Actions antibiotiques réciproques chez les Enterobacteriaceae

Rev. belge Path. exp. Méd. suppl. 4, 1 - 107
(1948 c)

FRETER, R.

In vivo and in vitro antagonism of
intestinal bacteria

II. The inhibitory mechanism

J. Infect. Dis. 110, 38 - 46 (1962)

FROST, W.D.

(zit. nach LEWIS, 1929)

J. Infect. Dis. 1, 599 - 640 (1904)

GABY, W.L. - HADLEY, C.

Practical laboratory test for the
identification of *Ps. aeruginosa*

J. Bact. 74, 356 - 358 (1957)

GAGLIANO, V.J. - HINS DILL, R.D.

Characterization of a *Staphylococcus aureus* bacteriocine

J. Bact. 104, 117 (1970)

GARDNER, G.A. - CARSON, A.W. - PATTON, J.

Bacteriology of prepacked pork with reference
to the gas composition within the pack

J. appl. Bact. 30, 321 - 333 (1967)

GARDNER, J.F.

An antibiotic produced by *Staph. aureus*

Brit. J. Exp. Path. 30, 130 (1949)

ders.

Some antibiotics formed by *Bact. coli*

Brit. J. Exp. Path. 31, 102 - 111 (1950)

GARRÉ, C.

Über Antagonisten unter den Bakterien

Zbl. Bakt. 2, 312 - 313 (1887)

GOULD, G.W.

in: "Microbial Inhibitors in Food"

4th Int. Symp. Food Microbiol., Göteborg
1954, pp. 17 - 24

GRATIA, A.

Sur un remarquable exemple d'antagonisme
entre deux souches de colibacilles

C. R. Soc. Biol. 93, 1040 - 1043 (1925)

ders.

Antagonisme microbien et "bacteriophagie"

Ann. Inst. Pasteur 48, 413 - 437 (1932)

GRATIA, A.

Des relations numériques entre bactéries
lysogènes et particules de bactériophage
Ann. Inst. Pasteur 57, 652 (1936)

ders.

Techniques sélectives pour la recherche
systématique des germes antibiotiques
C. R. Soc. Biol. 140, 1053 - 1055 (1946)

GRATIA, A. - FREDERICQ, P.

Diversité des souches antibiotiques de *B. coli*
et étendue variable de leur champs d'action
C. R. Soc. Biol. 140, 1032 (1946)

GRATIA, A. - THIBAUT, J.

Les agents antibiotiques des microbes
du genre *Bacillus*
Bull. Soc. Chim. Biol. 29, 356 (1947)

GRATIA, A. et al.

La technique de la double souche de gélose
et la distribution de germes producteurs de
colicines dans les matières fécales normales
et pathologiques de l'homme et des animaux
Ant. v. Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.
16, 31 (1950)

GRAVES, R.R. - FRAZIER, W.C.

Food microorganisms influencing the growth
of *Staphylococcus aureus*
Appl. Microbiol. 11, 513 - 516 (1963)

GRECZ, N.

Natural antibiosis in some varieties of
soft surface ripened cheese
in: "Microbial Inhibitors in Food"
4th Int. Symp. Food Microbiol., Göteborg
1954, pp. 25 - 34

GRÊCZ, N. - WAGENAAR, R.O. - DACK, G.M.

Inhibition of *Cl. botulinum* by culture
filtrates of *Brevibacterium linens*
J. Bact. 78, 506 - 510 (1959)

GREEN, G.E. - DODD, M.C.

Inhibition of oral lactobacilli by
streptococci
J. Bact. 72, 690 (1956)

- GROSSO, E.
Contributo allo studio delle colicine
(zit. nach BRANDIS & SMARDA, 1971)
Boll. ist. sieroter. milan. 29, 373 (1950)
- GRUMBACH, A.
Nährbodeneinflüsse auf die antibiotische
Staphylokokkenwirkung in vitro
Omagiu lui Mihai Ciuca
Editura Acad. Republ. Soc. România, 1965
- GUNDEL, M. - NIMSTEDT,
(zit. nach ETINGER-TULCZYNSKA, 1932)
Münch. Med. Wschr., p. 1674 (1925)
- GUNDEL, M.
Über den Antagonismus von Coli-Bakterien
auf Milzbrandbazillen
Zbl. Bakt. I Orig. 104, 463 - 473 (1927)
- GUNDEL, M. - KIEWE, H.
Experimentelle Untersuchungen über das anta-
gonistisch wirksame Prinzip der Coli- gegen-
über Milzbrandbazillen
Zbl. Bakt. I Orig. 124, 519 - 528 (1932)
- HAINES, R.B.
The minimum temperatures of growth of
some bacteria
J. Hyg. 34, 227 (1934)
- HALBERT, S.P.
The antagonism of coliform organisms
against shigellae
J. Bact. 54, 26 (1947)
- ders.
The relation of antagonistic coliform
organisms to shigella infections
I. Survey observations
J. Immunol. 60, 23 - 36 (1948)
II. Observations in acute infections
J. Immunol. 60, 359 - 381 (1948)
- HALBERT, S.P. - MAGNUSSON, H.J.
Studies with antibiotic-producing
strains of Escherichia coli
J. Immunol. 58, 397 - 415 (1948)

HALBERT, S.P. - SWICK, L. - SONN, C.

Characteristics of antibiotic-producing strains of the ocular bacterial flora
J. Immunol. 70, 400 - 410 (1953)

HALL, H.E.

Current developments in detection of micro-organisms in foods - Cl. perfringens
J. Milk Fd. Technol. 32, 426 (1969)

HAMAMURA, N.

Studies on pyocine
I. Distribution of pyocinogenic strains among Ps. aeruginosa
Virus (Osaka) 12, 194 (1962)

HAMON, Y.

Contribution à l'étude des pyocines
Ann. Inst. Pasteur 91, 82 (1956)

HAMON, Y. - VÉRON, M. - PÉRON, Y.

Contribution à l'étude des propriétés lyso-gènes et bactériocinogènes dans le genre Pseudomonas
Ann. Inst. Pasteur 101, 738 (1961)

HAMON, Y. - PÉRON, Y.

Apropos de quelques nouveaux types de colicines thermostables
C. R. Acad. Sci. 258, 3121 (1964 a)

dies. Quelques propriétés générales des entériobactériocines
C. R. Acad. Sci. 259, 1270 (1964 b)

dies. Description de sept nouveaux types de colicines. État actuel de la classification de ces antibiotiques
Ann. Inst. Pasteur 106, 44 (1964 c)

HAMON, Y.

Les bactériocines et substances analogues
Path. Biol. 13, 806 (1965)

HARTMAN, P.A. - REINBOLD, G.W. - SARASWAT, D.S.

Indicator organisms - a review
II. The role of enterococci in food poisoning
J. Milk Fd. Technol. 28, 344 - 350 (1965)

HARTMANN, L. - SINGRÜN, M.E.

Untersuchung und Auswertung symbiontischer
Erscheinungen bei Bakterien mit Hilfe des
Biocoenose-Simulators

Zbl. Bakt. I Orig. 207, 403 - 409 (1968)

HASHIMOTO, K.

Wachstumshemmende Wirkung von Colibazillen
pathogenen Darmbakterien gegenüber

Zbl. Bakt. 103, 1 - 9 (1927)

HAUKE, H.

Die Bedeutung der aeroben Sporenbildner
für die Lebensmittelhygiene

Wiss. Zschr. Karl-Marx-Univ. Leipzig
10, 303 - 305 (1961)

HEATLEY, N.G. - FLOREY, H.W.

An antibiotic from Bact. coli

Brit. J. Exp. Path. 27, 378 - 390 (1946)

HEATLEY, N.G. - DOERY, H.M.

The preparation and some properties of
purified Micrococcin

Biochem. J. 50, 247 - 253 (1952)

HEGEMANN, F.

Weitere Untersuchungsergebnisse über die
Natur des von menschlichen Speichelkokken
erzeugten antibakteriellen Stoffes

Z. Hyg. Infektionskrankh. 131, 355-363 (1950)

HELSTADT, A.G. - MANDEL, A.D. - EVANS, A.S.

Thermostable Cl. perfringens as cause of
food poisoning outbreak

Publ. Health Repts. 82, 157 - 161 (1967)

HENTGES, D.J. - FRETER, R.

In vivo and in vitro antagonism of intestinal
bacteria against Shigella flexneri

I. Correlation between various tests

J. Infect. Dis. 110, 30 - 37 (1962)

HESS, E.

Die Bedeutung der Fleischhygiene

Alimenta Sonderheft 1970, pp. 35 - 38

HIGGINBOTTOM, C.

The associated growth of the Coli-Aerogenes-Group and other bacteria in milk

XV. Int. Dairy Congr. 3, 1349 - 1354 (1959)

HIRSCH, A.

Growth and Nisin production of a strain of *Streptococcus lactis*

J. gen. Microbiol. 5, 208 - 221 (1951)

HIRSCH, A. - WHEATER, D.M.

"Streptozyme", a lytic enzyme from lactic streptococci

Nature 168, 607 (1951)

HIRSCH, A. - McCLINTOCK, M. - MOCQUOT, G.

Observations on the influence of inhibitory substances produced by the lactobacilli of Gruyère cheese in the development of anaerobic spore-formers

J. Dairy Res. 19, 179 - 186 (1952)

HOBBS, B.C.

"Food Poisoning and Food Hygiene", 2. Aufl.

Verlag: Edward Arnold Ltd., London, 1968

HOFFMANN, E.M. - STREITFELD, M.M.

The antibiotic activity associated with preparations of delta-hemolysin of *Staphylococcus aureus*

Canad. J. Microbiol. 11, 203 (1965)

HOJVAT, S.A. - JACKSON, H.

Effects of sodium chloride and temperature on the growth and production of enterotoxin B by *Staphylococcus aureus*

J. Canad. Inst. Fd. Technol. 2, 56 - 59 (1969)

HOLLAND, I.B.

The purification and properties of megacin, a bacteriocin from *Bac. megaterium*

J. Biochem. 78, 641 (1961)

ders.

Further observations on the properties of megacin, a bacteriocin formed by *Bacillus megaterium*

J. gen. Microbiol. 29, 603 (1962)

- HOLLAND, I.B.
Effect of a bacteriocin preparation (megacin C) on DNA synthesis in *Bac. megaterium*
Biochem. biophys. Res. Comm. 13, 246 (1963)
- HOLLAND, I.B. - ROBERTS, C.F.
A search for the transmission of megacinogenic factors in *Bac. megaterium*
J. gen. Microbiol. 31, XI (1963)
- dies.
Some properties of a new bacteriocin formed by *Bacillus megaterium*
J. gen. Microbiol. 35, 271 (1964)
- HOLLAND, I.B.
A bacteriocin specifically affecting DNA synthesis in *Bacillus megaterium*
J. Mol. Biol. 12, 429 (1965)
- ders.
Effect of DNA synthesis on preparations of a bacteriocin formed by *Bacillus megaterium*
Symp. Biol. Hung. 6, 101 (1966)
- ders.
Megacins
in: "Antibiotics, Vol. I", Edit.: Gottlieb-Shaw
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
(1967)
- HONGO, M. - MURATA, A. - KONO, K. - KATO, F.
Lysogeny and bacteriocinogeny in strains of *clostridium* species
Agr. Biol. Chem. 32, 27 (1968)
- van HOOF, J. - DEDEKEN, L.
Mikrobiologische Qualität von Hackfleisch
Vlaams Diergen. Tijdschr. 36, 216 - 227 (1967)
- HOYLE, M. - NICHOLS, A.A.
Inhibitory strains of lactic streptococci and their significance in the selection of cultures for starter
J. Dairy Res. 15, 398 - 408 (1948)
- HSU, Ch. - WISEMAN, G.M.
Antibacterial substances from staphylococci
Can. J. Microbiol. 13, 947 - 955 (1967)
- HUMFELDT, H. - FEUSTEL, I.C.
(zit. nach DIMICK et al., 1947)
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 54, 232 (1943)

IANOLO, J.J. - CLARK, C.W. - BLUHM, L. - ORDAL, Z.J.

Repression of *Staphylococcus aureus* in
associative culture

Appl. Microbiol. 13, 646 - 649 (1965)

IENISTEA, C. - PLECEAS, P.

Untersuchungen zum Vorkommen von Enterokokken
in verpacktem Gefrierhackfleisch unter dem
Einfluß der Verfahrenstechnik und während der
Gefrierlagerung

Die Nahrung 11, 53 - 61 (1967)

INGRAM, M.

Factors controlling the occurrence of various
bacteria in semipreserved meats

Ann. Inst. Pasteur Lille 7, 136 - 145 (1955)

ders. Bacterial multiplication in packed Wiltshire
bacon

J. appl. Bact. 23, 206 - 215 (1960)

ders. Microbial changes in foods - general
considerations

J. appl. Bact. 34, 1 - 8 (1971)

INGRAM, M. - DAINTY, R.H.

Changes caused by microbes in spoilage of
meats

J. appl. Bact. 34, 21 - 39 (1971)

IVÁNOVICS, G. - ALFÖLDI, L.

A new antibacterial principle: megacine

Nature 174, 465 (1954)

IVÁNOVICS, G. - ALFÖLDI, L. - ÁBRAHÁM, E.

Das antibakterielle Spektrum des Megacins

Zbl. Bakt. I Orig. 163, 274 - 280 (1955)

IVÁNOVICS, G. - NAGY, E.

Hereditary aberrancy in growth of some
Bacillus megaterium strains

J. gen. Microbiol. 19, 407 (1958)

IVÁNOVICS, G.

Bacteriocines and bacteriocin-like substances

Bact. Rev. 26, 108 - 118 (1962)

ders. Megacins and megacin-like substances

Zbl. Bakt. I Orig. 196, 318 - 329 (1965)

JACOB, F. - SIMINOVITCH, L. - WOLLMAN, É.L.

Sur la biosynthèse d'une colicine et sur son mode d'action

Ann. Inst. Pasteur 83, 295 - 315 (1952)

dies. Comparaison entre la biosynthèse induite de la colicine et des bactériophages et entre leur mode d'action

Ann. Inst. Pasteur 84, 313 (1953)

JACOB, F.

Biosynthèse induite et mode d'action d'une pyocine antibiotique de *Ps. pyocyanea*

Ann. Inst. Pasteur 86, 149 (1954)

JÁNOSSY, G.

Über das Vorkommen der Enterokokken in Lebensmitteln

Zbl. Bakt. I Orig. 211, 101 - 104 (1969)

JANSEN, E.F. - HIRSCHMANN, D.J.

(zit. nach DIMICK et al., 1947)

Arch. Biochem. 4, 297 (1944)

JENNINGS, M.A. - SHARP, A.E.

Antibacterial activity of the staphylococcus

Nature 159, 133 - 134 (1947)

JESAITIS, M.A. - HUTTON, J.J.

Properties of a bacteriophage derived from *Escherichia coli* K 235

J. exp. Med. 117, 285 (1963)

JONES, A.C. - KING, C.J.G. - TENNEL, H. - STONE, D.

The growth of *Staphylococcus aureus* in milk with special reference to food poisoning

Monthly Bull. Med. Res. Council (Gt. Brit.)
16, 109 - 122 (1957)

KAFEL, S. - MAJEWSKA, D.

Comparative studies on the effect of incubation (the incubation test) and storage of pasteurized hams on the bacteriological condition of these products

Biul. Inst. wet. Pulaw. 5, 6 (1961)

KAFEL, S. - AYRES, J.C.

The antagonism of enterococci on other bacteria in canned hams

J. appl. Bact. 32, 217 - 232 (1969)

KALMANSON, G.M. - HUBERT, E.G. - GUZE, L.B.

Effect of bacteriocin from *Sc. faecalis*
on microbial L-forms

J. Infect. Dis. 121, 311 (1970)

KAMADA, K.

Antagonismus und Mutation in Mischkulturen

Zbl. Bakt. I Orig. 118, 316 - 330 (1930)

KAO, C.T. - FRAZIER, W.C.

Effect of lactic acid bacteria on growth
of *Staphylococcus aureus*

Appl. Microbiol. 14, 251 - 255 (1966)

KEENE, J.K.

Preparation and chemical properties of
colicine I

Canad. J. Microbiol. 12, 425 (1966)

KÉKESY, D.A. - PIGUET, J.C.

New method for detecting bacteriocin
production

Appl. Microbiol. 20, 282 - 283 (1970)

KERELUK, K. - GUNDERSON, M.F.

A preliminary study on the effect of different
temperatures on the growth of various bacteria
isolated from frozen chicken meat pies

Bact. Proc. 1959, p. 7

KJEMS, E.

Studies on streptococcal bacteriophages
I. Technique of isolating phage-producing
strains

Acta path. microbiol. scand. 36, 433-440 (1955)

KLEIN, H.

Untersuchungen zur Bildung antibiotischer
Stoffe durch Micrococcaceae

Vet. med. Diss. München, 1970

KNIEWALLNER, K. - PRÄNDL, O.

Keimgehalte streichbarer Rohwürste (Mettwürste)
und sich daraus ergebende Aspekte für die
Beurteilung

Alimenta Sonderheft 1971, pp. 14 - 17

KNOCHE, J.

Untersuchungen zur Bewertung der Leistungsfähigkeit des Standard-Impingers nach Brachman und Mitarb. zum Nachweis von Luftkeimen im Stall

Vet. med. Diss. Berlin, 1971

KNOTHE, H. - SEELIGER, H.P.R. - DÖLL, W. - WIEDEMANN, B.

Enterobacteriaceae

Zbl. Bakt. I Orig. 211, 110 - 125 (1969)

KOVÁCS, N.

Identification of *Ps. pyocyanea* by the oxydase reaction

Nature 178, 703 (1956)

KRAUSE, P.

Ein Beitrag zur Mikroflora der Brätfleisches unter besonderer Berücksichtigung der Laktobazillen und Enterokokken

Vet. med. Diss. Berlin, 1968

LACHOWICZ, T.

A study of the isoantagonism among staphylococci - I. The isolation of an antibiotic factor from solid media

Med. Dośw. Mikrobiol. 14, 17 - 25 (1962)

ders.

Untersuchungen über den Isoantagonismus von Staphylokokken - III. Eigenschaften und Mechanismus der Wirkung roher Präparate von Staphylococcin A

Med. Dośw. Mikrobiol. 14, 289 - 296 (1962)

LACHOWICZ, T. - ROMANOWSKI, T.

Untersuchungen über den Isoantagonismus von Staphylokokken - II. Bakteriologische Eigenschaften der Antagonisten-Stämme und ihre Empfindlichkeit gegen Staphylococcin A

Med. Dośw. Mikrobiol. 14, 281 - 287 (1962)

dies.

Empfindlichkeit gegen Staphylococcin A von aus Staphylokokkenträgern isolierten Staphylokokken

Med. Dośw. Mikrobiol. 14, 305 - 309 (1962)

LACHOWICZ, T. - ROMANOWSKI, T. - WALCZYŃSKI, S.

Bakteriologische Eigenschaften und Empfindlichkeit gegen Staphylococcin A von aus pathologischen Veränderungen der Haut isolierten Staphylokokken

Med. Dośw. Mikrobiol. 14, 297 - 304 (1962)

LACHOWICZ, T.

Staphylococcin - an antibiotic substance of staphylococcal origin active against staphylococcus and other gram-positive bacteria

Przegląd Lekarski 19 II, 448 - 449 (1963)

ders.

Investigations on staphylococcus

Zbl. Bakt. I Orig. 196, 340 - 351 (1965)

LACHOWICZ, T. - WALCZAK, Z.

Preliminary report on purification of staphylococcin

Postepy Mikrobiol. V, 213 (1966)

dies.

Purification and properties of staphylococcin A

Arch. Immun. Therap. Exp. 16, 855 (1968)

LAMMERS, T.

Das antibakterielle Prinzip der Mundschleimhaut

Z. Hyg. Infekt. 135, 365 - 367 (1952)

LANGER, H.

Der antagonistische Index der Colibazillen

Dtsche. Med. Wschr. 43, 1317 - 1320 (1917)

LAWS - ANDREWES

(zit. nach LEWIS, 1929)

Repts. to the London County Council, p. 216
(1892)

LEISTNER, L.

Vorkommen und Bedeutung von Clostridien in Fleischwaren

Arch. Lebensmittelhyg. 21, 145 - 148 (1970)

ders.

Pathogene Mikroorganismen und mikrobielle Toxine in den vom Tier stammenden Lebensmitteln

14. Arbeitstagung Lebensmittelhygiene
Freiburg, 1971, pp. 1 - 8

LEISTNER, W. - KRÜGER, B.

Über das Vorkommen von Enterokokken in Wurstwaren

Mh. Vet. Med. 20, 892 - 895 (1965)

LEVINE, M. - TANIMOTO, R.H.

Antagonisms among enteric pathogens and
coliform bacteria

J. Bact. 67, 537 - 541 (1954)

LEWEK, T.

Über den Wachstumseinfluß nichtpathogener
Spaltpilze auf pathogene

Zbl. Bakt. 7, 107 (1890)

LEWIS, I.M.

Bacterial antagonism with special reference
to the effect of *Ps. fluorescens* on spore
forming bacteria of soils

J. Bact. 17, 89 - 103 (1929)

LIMSONG, S. - FRAZIER, W.C.

Adaptation of *Ps. fluorescens* to low levels
of water activity produced by different
solutes

Appl. Microbiol. 14, 899 - 901 (1966)

LOCKHART, W.R. - POWELSON, D.M.

J. Bact. 65, 293 - 296 (1953)

LOEB, L.J. - MOYER, A. - MURRAY, R.G.E.

An antibiotic produced by *Micrococcus*
epidermidis

Canad. J. Res. 28 E, 212 - 216 (1950)

LÖDE,

Experimentelle Untersuchungen über Bakte-
rienantagonismus

(zit. nach LEWIS, 1929)

Zbl. Bakt. I Orig. 33, 196 - 208 (1903)

LOTT, G.

Die bakteriellen Lebensmittelvergiftungen

Alimenta Sonderheft 1970, pp. 27 - 33

LOTT, G.

Wachstumsbeeinflussungen einiger Lebensmitt-
vergiftungen auslösender Keime durch Pseudo-
monaden

14. Arbeitstagung Lebensmittelhygiene,
Freiburg 1971, pp. 40 - 42

LOTT, G.

Zum Vorkommen von Pseudomonaden in Fleisch
und Fleischwaren sowie einige Eigenschaften
dabei isolierter Stämme

Alimenta Sonderheft 1971, pp. 60 - 62 (1971 a)

LUDWIG, K.

Bac. cereus als Ursache einer Lebensmittel-
vergiftung

Arch. Lebensmittelhyg. 22, 104 - 107 (1971)

LUXWOLDA, W.B.

Wachstum und Wirkung einiger Milchbakterien
bei verschiedenen Temperaturen

Zbl. Bakt. II 31, 129 - 175 (1911)

MACH, J. - SEDLÁK, J.

Pokus o produkci některých bacteriocinu v
hloubkové jednorázové kultivaci

Seminary on Bacteriocins, Brno 1967

MAHONY, D.E. - BUTLER, M.E.

Bacteriocins of Clostridium perfringens
I. Isolation and preliminary studies

Canad. J. Microbiol. 17, 1 (1971)

MANOLOV, D.G.

Antagonism between B. coli and B. typhi in
mixed culture in vitro

Zhur. Microb. Epid. Immun. 14, 524-532 (1935)

MARESZ-BABCZYNSZYN, J. - MRÓZ-KURPIELA, E. - ŚLOPEK, St.

Sensitivity of Klebsiella bacilli to
Fredericq's set of colicins

Arch. Immunol. Ther. exp. 15, 512 (1967)

MARTH, E.H. - HUSSONG, R.V.

Effect of skinmilks cultured with different
strains of Leuconostoc citrovorum on growth
of some bacteria and yeasts

J. Dairy Sci. 46, 1033 - 1037 (1963)

MART, E.H.

Antibiotics in foods - naturally occurring,
developed, and added

Res. Rev. 12, 65 - 161 (1966)

MATTICK, A.T.R. - HIRSCH, A.

Further observations on an inhibitory substance
(Nisin) from lactic streptococci
Lancet II, 5 - 8 (1947)

McCOY, D.W. - FABER, J.E.

Influence of food microorganisms on staphylo-
coccal growth and enterotoxin production in
meat
Appl. Microbiol. 14, 372 - 377 (1966)

MEANWELL, L.J.

The influence of raw milk quality on
"slowness" in cheesemaking
Proc. Soc. Agric. Bact. Abstr. 19 (1943)

MICHENER, H.D. - ELLIOTT, R.P.

Minimum growth temperatures for food-poisoning,
fecal-indicators and psychrophilic micro-
organisms
Adv. Food Res. 13, 349 - 396 (1964)

MIDURA, Th. - GERBER, M. - WOOD, R. - LEONARD, A.R.

Outbreak of food poisoning caused by
bacillus cereus
Publ. Health Rep. 85, 45 - 48 (1970)

MILEV, M. - KOVACHEV, A.

Microbiological and biochemical studies of
semimanufactured meat products
I. Microflora of minced meat
Veterin. Nauki 7, 53 - 62 (1970)

MILLER, W.A.

Effect of freezing ground pork and subsequent
storing above 32 F upon the bacterial flora
Food Technol. 9, 332 - 334 (1955)

MOORE, E.E.

Aureocin
J. Med. Microbiol. 3, 183 (1970)

MOSSEL, D.A.A. - INGRAM, M.

The physiology of the microbial spoilage
of foods
J. appl. Bact. 18, 232 - 268 (1955)

MOSSEL, D.A.A.

Nahrungsmittel als Umwelt für Mikroorganismen,
die Lebensmittel gesundheitsschädlich machen
Alimenta 8, 8 - 19 (1969)

ders.

Mikrobiologische Qualitätsbeherrschung in
der Lebensmittelindustrie
Alimenta Sonderheft 1970, pp. 47 - 74

MÜLLER, F.J. - STOJANOW, I.

Die Epidemiologie der Staphylokokken-
Lebensmittelvergiftung
Alimenta 10, 22 - 27 (1971)

NEUFELD, F. - KUHN, H.

Untersuchungen über "direkten" Bakterien-
antagonismus
Zbl. Hyg. Inf. 116, 95 - 110 (1935)

NIINIVAARA, F.

Erfahrungen bei der Herstellung von Rohwurst
mit Bakterienreinkulturen
Fleischwirtschaft 2, 789 - 790 (1957)

NISSLE, A.

Über die Grundlagen einer neuen ursächlichen
Bekämpfung der pathologischen Darmflora
Dtsche. Med. Wschr. 42, 1181 - 1184 (1916)

NIVEN, C.F. jr.

Nutrition of Streptococcus lactis
J. Bact. 47, 343 (1944)

NOMURA, M.

Mechanism of action of colicins
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 52, 1514 (1964)

OBERHOFER, T.R. - FRAZIER, W.C.

Competition of Staphylococcus aureus with
other organisms
J. Milk Fd. Technol. 24, 172 - 175 (1961)

OBLINGER, J.L. - KRAFT, A.A.

Inhibitory effect of Pseudomonas on selected
salmonella and bacteria isolated from poultry
J. Food Sci. 35, 30 - 32 (1970)

OLITSKY, L.

(zit. nach LEWIS, 1929)

Inaug. Diss. Bern, 1891

OLIVIER, H.R.

(zit. nach DIMICK et al., 1947)

Nature 157, 238 (1946)

ORTMANN, S.

Ein Beitrag zur Prüfung der Überlebenszeit
von Salmonellen in Rohwürsten

Mh. Vet. Med. 22, 422 - 424 (1967)

OXFORD, A.E.

Diplococcin, an antibacterial protein
elaborated by certain milk streptococci

J. Biochem. 38, 178 - 182 (1944)

PARKER, M.T. - TOMLINSON, A.J.H. - WILLIAMS, R.E.O.

Impetigo contagiosa - The association of
certain types of Staph. aureus and of Strept.
pyogenes with superficial skin infections

J. Hyg. 53, 458 - 473 (1955)

PARKER, M.T. - SIMMONS, L.E.

The inhibition of Corynebact. diphtheriae and
other gram-positive organisms by Staphylococcus
aureus

J. gen. Microbiol. 21, 457 - 476 (1959)

PATERSON, A.C.

Bacteriocinogeny and lysogeny in the genus
Pseudomonas

J. gen. Microbiol. 39, 295 (1965 a)

ders.

Bacteriocinogeny in Pseudomonas aeruginosa

Symp. Biol. Hung. 6, 115 (1965 b)

PETERSON, A.C. - BLACK, J.J. - GUNDERSON, M.F.

Staphylococci in competition

I. Growth of naturally occurring mixed popula-
tions in precooked frozen foods during
defrost

Appl. Microbiol. 10, 16 - 22 (1962 a)

dies.

II. Effect of total numbers and proportion of
staphylococci in mixed cultures on growth
in artificial culture medium

Appl. Microbiol. 10, 23 - 30 (1962 b)

- PETERSON, A.C. - BLACK, J.J. - GUNDERSON, M.F.
Staphylococci in competition
III. Influence of pH and salt on staphylococcal
growth in mixed populations
Bact. Proc. 1962, p. 33 (1962 c)
- PIVOVAROV, Y.P. - KUKHTO, A.I.
Effect of canned food pH on growth of *Bacillus cereus*
Voprosy Pitaniya 29, 72 - 75 (1970)
- PIVOVAROV, Y.P. et al.
Bacillus cereus as causative organism of
food poisoning in man
Voprosy Pitaniya 29, 25 - 28 (1970)
- POPOVICI, M. - NESTORESCU, N. - ALEXENCO, E. - VIANU, I.
Recherches sur les bactériocines chez les
germes du genre *Staphylococcus*
Arch. roum. Path. exp. Microbiol. 27, 125 (1968)
- PRANDL, O. - KNIEWALLNER, K. - HARTLEB, W. - YURTYERI, A.
Zum Problem Hackfleischhygiene
Wiener Tierärztl. Mtschr. 56, 53 - 58 (1969)
- PUSZTAI, S. - IVANOVITS, M.
Changes in the microbial flora of frozen chop-
ped pork-liver during storage
Hűtőipar 17, 48 - 52 (1970)
- RAHN, O. - RICHARDSON, G.L.
Oxygen demand and oxygen supply
J. Bact. 44, 321 (1942)
- RÉGNIER, M.J. - LAMBIN, S.
Étude d'un cas d'antagonisme microbien
(*B. coli* - *Staph. aureus*)
C. R. Acad. Sci. 199, 1682 - 1684 (1934)
- REITER, B. - FEWINS, B.G. - FRYER, T.F. - SHARP, M.E.
Factors affecting the multiplication and sur-
vival of coagulase-positive staphylococci
in Cheddar cheese
J. Dairy Res. 31, 261 - 272 (1964)
- REUTER, G.
Erfahrungen mit Nährböden für die selektive
mikrobiologische Analyse von Fleischerzeugnissen
Arch. Lebensmittelhyg. 19, 53 - 57 u. 84 - 89 (1968)

REUTER, G. - LANGNER, H.J. - SINELL, H.J.

Entwicklung der Mikroflora in schnellreifender deutscher Rohwurst und analoge quantitative Aminosäureanalyse bei einer Salami

Fleischwirtschaft 48, 170 - 176 (1968)

REUTER, G.

Laktobazillen und eng verwandte Mikroorganismen in Fleisch und Fleischwaren

I. Vorkommen und Bedeutung (Literaturübersicht)

Fleischwirtschaft 50, 951 - 954 (1970 a)

ders.

Untersuchungen zur Mikroflora von vorverpackten, aufgeschnittenen Brüh- und Kochwürsten

Arch. Lebensmittelhyg. 12, 257 - 264 (1970 b)

ders.

Laktobazillen und eng verwandte Mikroorganismen in Fleisch und Fleischwaren

VII. Kohlenhydrat-Stoffwechselprodukte und antagonistische Aktivitäten gegenüber saprophytären und enterotoxischen Mikroorganismen

Fleischwirtschaft 51, 1237-1242 u. 1245 (1971)

ders.

Antagonistische Wirkung der Milchsäurebakterien auf andere Keimgruppen der Lebensmittelflora

Zbl. Vet. Med. B 19, 232 - 246 (1972)

ders.

Versuche zur Rohwurstreifung mit Laktobazillen- und Mikrokokken-Starterkulturen

Fleischwirtschaft 52, 465-468, 471-473 (1972 a)

REY, C.R. - KRAFT, A.A. - WALKER, H.W. - PARISH, F.C. jr.

Microbial changes in meat during aging at elevated temperature and later refrigerated storage

Food Technol. 24, 67 - 71 (1970)

RIEMANN, H.

"Foodborne Infections and Intoxications"

Verlag: Acad. Press, New York, 1969

RITTER, P.

Der Antagonismus der Milchsäurebakterien gegen die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe

Schwz. Milchzeitung 76 Nr. 2 (1950)

ders.

Der Antagonismus der Milchsäurebakterien gegen die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe

Schwz. Z. allgem. Path. Bakt. 15, 599-603 (1952)

RITTER, P.

Der Antagonismus der Milchsäurebakterien gegen
die Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe
II. Die Bildung spezifisch antibiotischer Stoffe
durch die Milchsäurebakterien

Schwz. Milchzeitung 82, 273 - 280 (1956)

RÖDEL, W. - LEISTNER, L.

Ein einfacher a_w -Wert-Messer für die Praxis
Fleischwirtschaft 51, 1800 - 1802 (1971)

ROGERS, L.A.

The inhibitory effect of *Sc. lactis* on *Lb.*
bulgaricus

J. Bact. 16, 321 - 325 (1928)

ROGERS, L.A. - WHITTIER, E.O.

Limiting factors in the lactic fermentation

J. Bact. 16, 211 - 229 (1928)

ROSEBURY, Th. - GALE, D. - TAYLOR, D.F.

An approach to the study of interactive pheno-
mena among microorganisms indigenous to man

J. Bact. 67, 135 - 152 (1954)

SABINE, D.B.

An antibiotic-like effect of *Lb. acidophilus*

Nature 199, 811 (1963)

SALLE, A.J. - JANN, G.J.

(zit. nach DIMICK et al., 1947)

Proc. Soc. exp. Biol. Med. 60, 60 (1945)

SASARMAN, A. - ANTOHI, M.

Présence des bactériocines chez le *Cl.*
perfringens

Arch. roum. Path. Exp. Microbiol. 22, 377 (1963)

dies.

Welchicines, bactériocines produites par
Cl. perfringens

Arch. roum. Path. Exp. Microbiol. 28, 1102 (1969)

SCHEIBNER, G.

Untersuchungen an Brühwurst-Halbkonserven
I. Keimgehalt und Verderbnis

Monatshefte Vet. Med. 22, 628 - 632 (1967)

SCHEIBNER, G.

Beobachtungen über das Verhalten von Salmonellen beim Räuchern von Rohwurst

Monatshefte Vet. Med. 24, 388 - 391 (1969)

SCHERNER, E. - STIER, R.

Trocknungsversuche mit salmonellenhaltigen Rohwürsten

Fleischwirtschaft 50, 663 (1970)

SCHJØTZ, A.

(zit. nach JENNINGS & SHARP, 1947)

Ugeskrift f. Læger, Copenhagen 71, 1373 (1909)

SCOTT, W.J.

Water relations of food spoilage microorganisms

Adv. Food Res. 7, 83 - 127 (1957)

SEELIGER, H.P.R.

Häufigkeit und Ursachen mikrobieller Nahrungsmittelvergiftungen

Alimenta 2, 183 - 189 (1970)

SEIDEL, G. - MUSCHTER, M.

"Die bakteriellen Lebensmittelvergiftungen"

Akademie-Verlag Berlin, 1967

SEMINIANO, E.N. - FRAZIER, W.C.

Effect of pseudomonads and achromobacteriaceae on growth of Staphylococcus aureus

J. Milk Fd. Technol. 29, 161 - 164 (1966)

SHERMAN, J.M. - STARK, C.N. - STARK, P.

Destruction of botulinum toxin by milk bacteria

J. Dairy Sci. 11, 352 - 358 (1928)

SHERWOOD, N.P. - RUSSELL, B.E. - JAY, A.R. - BOWMAN, K.

Studies on streptococci

III. New antibiotic substances produced by β -hemolytic streptococci

J. Infect. Dis. 84, 88 - 91 (1949)

SINELL, H.J. - BAUMGART, J.

Über das Vorkommen von Staphylococcus aureus in Rohwürsten und Pökelfwaren

Zbl. Vet. Med. B 13, 576 - 586 (1966)

- SILBER, - NIKOLSKAJA,
(zit. nach KAMADA, 1930)
Zbl. Bakt. I Orig. 112, 451 (1929)
- SKOVGARD, N.
Bacteriology of canned meats
XVI. Internat. Tierärztekongreß, Madrid
II, 799 - 802 (1959)
- SKULBERG, A.
Studies on the formation of toxin by
Clostridium botulinum
Monographie A/S Kaare Grytting, Orkanger, 1964
- SMARDA, J.
Morphology of bacteria treated with colicin
Nature 194, 792 (1962)
- ders. Lysogenie a colicinogenie bakterii *E. coli*
Thesis Brno, 1963
- ders. Some problems of the immediate action of
colicines on susceptible bacteria
Antimicrob. Agents Chemotherapy p. 345 (1965)
- SPENCER, R.
Vacuum packed bacon
13th Meeting Europ. Meat Res. Workers,
Rotterdam, 1967
- SPLITTSTOESSER, D.F. - WETTERGREEN, W.P.
The significance of coliforms in frozen
vegetables
Food Technol. 18, 392 - 394 (1964)
- STARK, C.N. - SHERMAN, J.M. - STARK, P.
Destruction of botulinum toxin by
Bacillus subtilis
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 26, 343 - 344 (1929)
- STARK, J.M.
Antibiotic activity of hemolytic enterococci
Lancet 1, 733 (1960)
- STRINGER, W.C. - BILSKIE, M.E. - NAUMANN, H.D.
Microbial profiles of fresh beef
Food Technol. 23, 97 - 102 (1969)

STRONG, D.H. - FOSTER, E.F. - DUNCAN, C.L.

Influence of water activity on the growth
of *Clostridium perfringens*

Appl. Microbiol, 19, 980 - 987 (1970)

SWARTLING, P. - LINDGREN, B.

Über den Einfluß bestimmter Bakterien auf das
Wachstum von Clostridien

Ref. in: Zschr. Lebensmittel-Untersuch. Forsch.
123, 187 - 188 (1963)

SU, T.L.

Micrococcin, an antibacterial substance formed
by a strain of micrococcus

Brit. J. Exp. Path. 29, 473 - 482 (1948)

TAKÁCS, J. - SIMONFFY, Z.

Das Salmonellen-Problem bei Dauerwürsten
Fleischwirtschaft 50, 1200 - 1202 (1970)

THATCHER, F.S. - CLARK, D.S.

"Microorganisms in Foods - Their Significance
and Methods of Enumeration"

Verlag: University of Toronto Press, Toronto
(1968)

THOMPSON, R. - SHIBUYA, M.

The inhibitory action of saliva on the diphthe-
ria bacillus: the antibiotic effect of
salivary streptococci

J. Bact. 51, 671 - 684 (1946)

TONGE, R.J. - BAIRD-PARKER, A.C. - CAVETT, J.J.

Chemical and microbiological changes during
storage of vacuum packed sliced bacon

J. appl. Bact. 27, 252 - 264 (1964)

TRAMER, J.

The inhibitory action of Nisin on *Bacillus*
stearothermophilus

in: "Microbial Inhibitors in Food"
4th Int. Symp. Food Microbiol., Göteborg
1954, pp. 25 - 34

ders.

Inhibitory effect of *Lb. acidophilus*

Nature 211, 204 - 205 (1966)

TROLLER, J.A. - FRAZIER, W.C.

Repression of *Staphylococcus aureus* by food bacteria

I. Effect of environmental factor on inhibition

Appl. Microbiol. 11, 11 - 14 (1963 a)

dies. II. Causes of inhibition

Appl. Microbiol. 11, 163 - 165 (1963 b)

TUBYLEWICZ, H.

Experimental studies on bacteriocinogeneity in *Clostridium perfringens* type A

Bull. Acad. Pol. Sci. 14, 31 (1966 a)

Bull. Acad. Pol. Sci. 14, 467 (1966 b)

TZANNETIS, S. - LEONARDOPOULOS, J. - PAPA VASSILIOU, J.

Enterocinogeny and lysogeny in enterococci

J. appl. Bact. 33, 358 - 362 (1970)

UNTERMANN, F. - SINELL, H.J.

Beitrag zum Vorkommen enterotoxinbildender Staphylokokken in Lebensmitteln

Zbl. Bakt. I Orig. 215, 166 - 172 (1970)

UNTERMANN, F.

Nachweis Enterotoxin-bildender Staphylokokken in Lebensmitteln und ihre hygienische Bedeutung

Welttierärztekongreß Mexico, 1971

VANDERZANT, C.

Interactive phenomena among bacteria of dairy origin

J. Dairy Sci. 51, 991 - 995 (1968)

VESELOV, A.Y.

Food poisoning of staphylococcal origin

Voprosy Pitaniya 29, 72 - 73 (1970)

VINCENT, J.G. - VEOMETT, R.C. - RILEY, R.F.

Relations of the indigenous flora of the small intestine of the rat to postirradiation bacteremia

J. Bact. 69, 38 - 44 (1955)

dies. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*

J. Bact. 78, 477 - 484 (1959)

VRCHLABSKÝ, J. - LEISTNER, L.

Hitzeresistenz der Enterokokken bei
unterschiedlichen a_w -Werten

Fleischwirtschaft 50, 1237 - 1238 (1970)

WESSELINOFF, W. - BAILJOSOFF, D. - MANOFF, T.

Mikroflora in Fleischhalbkonserven

ref. in: Fleischwirtschaft 49, 1437 (1969)

WHEATER, D.M. - HIRSCH, A. - MATTICK, A.T.R.

"Lactobacillin", an antibiotic from
lactobacilli

Nature 168, 659 (1951)

dies. Possible identity of "Lactobacillin" with
hydrogen peroxide produced by lactobacilli

Nature 170, 623 - 624 (1952)

WHITE, B.J. - HILL, Th.J.

Antagonistic relationship between oral
organisms

J. Dent. Res. 28, 272 - 275 (1949)

WHITEHEAD, H.R. - RIDDET, W.

Slow development of acidity in cheese
manufacture

N. Z. J. Agr. 46, 225 - 229 (1938)

von WIKULLIL, L.

Wachstumsverhältnisse in Bakterienmisch-
populationen

Zbl. Bakt. I Orig. 126, 488 - 508 (1932)

WINSLOW, C.E.A. - COHEN, B.

Relative viability of B. coli and B. aero-
genes types in water

J. Infect. Dis. 23, 82 - 89 (1918)

WODZINSKY, R.J. - FRAZIER, W.C.

Moisture requirements of bacteria

II. Influence of temperature, pH, and malate
concentration on requirements of
Aerobacter aerogenes

J. Bact. 81, 353 - 358 (1961)

WYNNE, E.S.

Antagonism by Aerobacter strains

J. Bact. 53, 469 - 478 (1947)

WYNNE, E.S. - NORMAN, J.O.

On the concept of "direct antagonism" in bacteria

J. Infect. Dis. 93, 243 - 246 (1953)

YEOH, H.T. - BUNGAY, H.R. - KRIEG, N.R.

A microbial interaction involving combined mutualism and inhibition

Can. J. Microbiol. 14, 491 - 492 (1968)

YOUNG, G. - KRASNER, R.I. - YUDKOFISKY, P.L.

Interactions of oral strains of *Candida albicans* and lactobacilli

J. Bact. 72, 525 - 529 (1956)

ZÄHNER,

"Biologie der Antibiotika"

Springer-Verlag Berlin, 1965

ZUBRZYCKI, L. - SPAULDING, E.H.

(zit. nach HENTGES & FRETER, 1962)

Bact. Proc. 1957, p. 101

dies. (zit. nach HENTGES & FRETER, 1962)

J. Bact. 75, 278 - 282 (1958)

ZUBRZYCKI, L.

(zit. nach HENTGES & FRETER, 1962)

Diss. Temple Univ., Philadelphia, 1958

ZUKERMAN, I. - MINKEWITSCH, I.

Zur Frage des bakteriellen Antagonismus

Zbl. Bakt. Ref. 80, 483 (1925)

N. N.

Confidential Report: Biological effects of feeding Nisin and nisin cheese

Res. Div. Aplin & Barrett Ltd., Somerset
(ohne Jahresangabe)

N. N.

Toxicological data of Nisin

Res. Div. Aplin & Barrett Ltd., Somerset
(ohne Jahresangabe)

N. N.

Plate assay method for Nisin

Res. Div. Aplin & Barrett Ltd., Somerset
(ohne Jahresangabe)

An dieser Stelle sei meinem verehrten
Lehrer, Herrn Prof. Dr. Gerhard Reuter,
für die Überlassung des Themas, zahl-
reiche Anregungen und jederzeit freund-
lich gewährten Rat herzlich gedankt.

Allen übrigen Angehörigen des Institutes,
die mir ihre Unterstützung zuteil werden
ließen, sowie Herrn Dr. H. Weiß und Herrn
F.J. Kretschmer von der Abt. für Biometrie
sei gleichfalls Dank gesagt.

Lebenslauf

Geboren am 4. 8. 1943 in Nürnberg

Reifeprüfung im Juli 1963 in Nürnberg

Studium der Veterinärmedizin an der FU
Berlin seit WS 1965/66 - Tierärztliche
Vorprüfung am 14.3.1967 - Staatsexamen
am 30.6.1970 - Bestallung am 26.10.1970

Am Institut für Lebensmittelhygiene
seit April 1969 als studentischer Mit-
arbeiter und seit August 1970 als
Teilzeitassistent beschäftigt.

